Postverlagsort Würzburg 2

DIE NATURWISSENSCHAFTEN

BEGRÜNDET VON A. BERLINER UND C. THESING

UNTER BESONDERER MITWIRKUNG VON

ERICH v. HOLST

HERAUSGEGEBEN VON

ERNST LAMLA

BEIRAT:

J. BARTELS · E. BEDERKE · H. BROCKMANN · P. TEN BRUGGENCATE · C. W. CORRENS · H. J. DEUTICKE
R. GRAMMEL · O. HAHN · R. HARDER · M. HARTMANN · W. HEISENBERG · A. KÜHN · M. v. LAUE
H. MARTIUS · R. W. POHL · W. WEIDEL

ORGAN DER MAX-PLANCK-GESELLSCHAFT ZUR FÖRDERUNG DER WISSENSCHAFTEN
ORGAN DER GESELLSCHAFT DEUTSCHER NATURFORSCHER UND ÄRZTE

SPRINGER-VERLAG / BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

45. JAHRGANG **HEFT 23 (ERSTES DEZEMBERHEFT)** **1958**

INHALT

Seite

AUFSÄTZE

Mögliche Ursachen der verschiedenen Strahlenempfindlichkeit des Erbmaterials in Keimzellen unterschiedlichen Alters. Von H. Fritz-Niggli 557

Über den verschluckbaren Intestinalsender für p_H-Wert-Signalisierung. Von M. v. Ardenne und H. B. Sprung 564

KURZE ORIGINALMITTEILUNGEN

Ergebnisse der Fehlerfortpflanzungsrechnung bei der Lösung von Faltungsintegralgleichungen und ihre Bedeutung für Informationsmöglichkeiten in der Natur. Von H. Wolter . 565

On the Possibility of Electromagnetic Damping of the Moon's Motion. Von O. Jefimenko 566

Messung der elastischen Konstanten von CdS-Einkristallen. Von E. Gutsche 566

Beeinflussung der ausgeprägten Streckgrenze von weichem Stahl durch Sandstrahlen. Von H. Spindler 566

Fortlaufende Messung schwacher β-Strahler in Flüssigkeiten mit Szintillatorschlauch. Von K. H. Kimbel und J. Willenbrink 567

Behaviour of Monovalent Impurities Incorporated in Alkali Halides. Von A. K. Das Gupta und K. P. Sinha 567

Einführung von Brom in Nucleinsäuren. Von W. Kanngiesser 568

Darstellung von Ekgonin-Ester-Analogen. Von I. Weisz, M. Halmos und B. Matkovics 568

Chromatographische Trennung von Chlorophyll-a und -b an Eisenoxyd. Von O. Glemser und G. Rieck 569

Diagonales Kreuzungsverfahren der Papierelektrophorese zum Nachweis der Enzym-Substrat-Verbindungen. Von S. Nakamura und T. Ueta 569

Die Trennung zyklischer Nucleotide mittels Papierchromatographie. Von J. Stockx 570

Die Verwendung von Triäthylenglykol als stationäre Phase bei der papierchromatographischen Trennung der 17-Ketosteroide. Von L. Stárka und J. Živný 570

Ein neues Nachweisreagenz auf Phenole für die Papierchromatographie. Von F. Klinkhammer 571

Oszillopolarographie der Steroide. Von V. Morávek 571

Polarographische Sauerstoffbestimmung bei Drucken über 1 atm und ihre Anwendung zur Sauerstoffverbrauchsmessung in biologischen Versuchen. Von E. Schubert 571

Seite

Zur Frage der Kooperation intrazellulärer Oxydationssysteme. II. Reaktionen von löslichen und partikulären Diaphorasen mit einem mitochondrialen DPNH-Oxydase-System. Von S. Rapoport und E. C. G. Hofmann 572

Die Beziehungen zwischen der molekularen Struktur verschiedener Wuchsstoffe und der Semipermeabilität lebender Membranen. Von M. Hasman 573

Über den Gehalt von Mohnpflanzen an Narkotolin. Von R. Miram und S. Pfeifer 573

Dihydro-methysticin, ein sedatives Prinzip der Kawawurzel. Von R. Hänsel und H. U. Beiersdorff 573

Studies in Nopalea cochinellifera. Von R. W. P. Master . . . 574

Antifibrinolytische Aktivität einiger Trypsin-Inhibitoren. Von J. Hladovec, V. Mansfeld und Z. Horáková . . . 575

Cytochemische Schwermetall-Lokalisation im menschlichen Knochenmark — ein Beitrag zum Vitamin B_{12}-Nachweis. Von R. Amann und K. Schultis 575

Untersuchungen an Knorpeltransplantaten mit markiertem Phosphat. Von J. Musil und R. Kluzák 576

Über die vermeintliche androgene Wirkung einiger 3-Enoläther, die sich von Δ^4-3-Ketosteroiden der androgenen Reihe ableiten, und über ihre Anwendung beim Mammakarzinom der Frau. Von A. Ercoli 576

The Interactions between Caffeine, Guanosine and Adenosine related to the Induction of Respiration-deficient Yeast. Von S. Nagai und H. Nagai 577

Zur Auslösung von Plasmabewegungen in Ruhezellen. Von H. Lettré und R. Lettré 577

Cytochrome-oxydase et Résistance à l'Hydrazide de l'Acide Isonicotinique (INH) des Mycobactéries (Souches B. C. G.). Von E. Soru, M. Istrati und M. Paraschivesco 578

Weitere Studien zur Photomorphogenese der Keimlinge von Sinapis alba (L.). Von H. Mohr und A. Lünenschloss . . 578

Das Mischen von Trieben (Instinktbewegungen) durch mehrfache Stammhirnreizung beim Huhn. Von E. v. Holst und V. v. St. Paul 579

BESPRECHUNGEN

Handbuch der Physik. Bd. 50: Astrophysik I. (Ref.: H. H. Voigt) 580

General Cytochemical Methods. Bd. I. (Ref.: G. C. Hirsch) . 580

DIE NATURWISSENSCHAFTEN

Begründet 1913 von *A. Berliner* und *C. Thesing*. 1934/35 herausgegeben von *H. Matthée*, 1936—1944 herausgegeben von *F. Süffert*, 1945—1949 herausgegeben von *A. Eucken*.

Beilage: „Mitteilungen der Gesellschaft Deutscher Naturforscher und Ärzte".

Bildet die Fortsetzung der „Naturwissenschaftlichen Rundschau", begründet 1886 und bis 1912 (Jahrgang 27) herausgegeben von *J. Bernstein*, *V. Meyer*, *B. Schwalbe*, *W. Sklarek* u. a. Braunschweig, F. Vieweg & Sohn.

Organ der Gesellschaft Deutscher Naturforscher und Ärzte und Organ der Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften (bis 1948 Organ der Kaiser-Wilhelm-Gesellschaft).

Die **„Naturwissenschaften"** erscheinen zweimal monatlich. Bestellungen nimmt jede Buchhandlung und jedes Postamt entgegen. Preis vierteljährlich 15.— DM, für das einzelne Heft 3.— DM, zuzüglich Postgebühren. Die Mitglieder der Gesellschaft Deutscher Naturforscher und Ärzte erhalten die Zeitschrift im Abonnement mit einem Nachlaß von 20%. Für Studierende der Naturwissenschaften ermäßigt sich der Bezugspreis auf vierteljährlich 11.25 DM zuzüglich Zustellgebühren. Lieferung läuft weiter, wenn nicht vier Wochen vor Quartalschluß abbestellt wird. Der Bezugspreis ist im voraus zahlbar.

Nachdruck: Es wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß mit der Annahme des Manuskripts und seiner Veröffentlichung durch den Verlag das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag übergeht. Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind und die auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen der Autor sich verpflichtet.

Es ist ferner ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages nicht gestattet, photographische Vervielfältigungen, Mikrofilme, Mikrophote u. ä. von den Zeitschriftenheften, von einzelnen Beiträgen oder von Teilen daraus herzustellen.

Sonderdrucke: Den Verfassern von Originalbeiträgen und Kurzen Originalmitteilungen stehen 75 Exemplare kostenfrei zur Verfügung.

Anschrift der Redaktion:
(20b) Göttingen, Jennerstr. 21, Tel. 59717

Anzeigen werden von der Anzeigenabteilung des Verlages (Berlin-Wilmersdorf, Heidelberger Platz 3, Fernsprecher 830301) angenommen. Die Preise wolle man unter Angabe der Größe und des Platzes erfragen.

Springer-Verlag
Berlin · Göttingen · Heidelberg

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinn der Warenzeichen- und Markenschutzgesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Redaktionelle Hinweise

I. Allgemeines.

1. Bei der Einsendung von Manuskripten an „Die Naturwissenschaften" bittet die Redaktion die Herren Autoren, stets im Auge zu behalten, daß die Zeitschrift in erster Linie den Wünschen und Interessen des weiten Kreises ihrer Leser zu dienen hat, und daß daher ihnen gegenüber Sonderwünsche der Herren Autoren in bezug auf Inhalt, Form und Umfang ihrer Veröffentlichung zurücktreten müssen, falls die Redaktion dies für erforderlich hält.

2. Vor allem bittet die Redaktion, von der Einsendung von Aufsätzen Abstand zu nehmen, die nur für einen engbegrenzten Leserkreis verständlich und von Interesse sind, und die daher in einer Fachzeitschrift ihren richtigen Platz haben. Ausnahmen bilden knapp gefaßte Schilderungen der Ergebnisse eben fertiggestellter Arbeiten; für diese ist die Rubrik „KOM" („Kurze Originalmitteilungen") vorgesehen. Wegen Platzmangels sind allerdings auch hier gewisse Einschränkungen nötig. In bezug auf den Inhalt: Angenommen werden können nur wirklich wichtige Arbeiten (z. B. keine bloßen Analogiearbeiten). In bezug auf den Umfang: Im Durchschnitt kann für eine einzelne KOM nur der Raum einer Spalte (etwa 1000 Silben) zur Verfügung gestellt werden.

3. Die KOM erscheinen „unter ausschließlicher Verantwortung der Autoren". Eine wissenschaftlich-kritische Stellungnahme der Herausgeber zu ihrem Inhalt erfolgt nicht. Die Redaktion prüft lediglich, ob ein genügendes Allgemein-Interesse vorliegt.

4. „Kurze Originalmitteilungen" aus dem englischen und französischen Sprachgebiet können in der Originalsprache veröffentlicht werden.

II. Spezielle Hinweise.

Alle Sendungen und Zuschriften sind zu richten an:

Redaktion der Naturwissenschaften,
(20b) Göttingen, Jennerstr. 21, Tel. 59717.

In sämtlichen Fällen erhalten die Autoren eine Bestätigung über das Eintreffen von Manuskripten sowie über deren Annahme oder Ablehnung. In den Aufsätzen sind seltene und nur einem kleinen Leserkreis verständliche Fachausdrücke nach Möglichkeit zu vermeiden oder in einer Fußnote kurz zu erläutern. Literaturzitate sind fortlaufend zu numerieren; die angeführten Arbeiten werden dann in einem Literaturverzeichnis am Schluß der Arbeit zusammengestellt. Bei Erläuterungen des Textes durch Figuren ist überflüssiger Aufwand zu vermeiden. Figurenvorlagen für Strichätzungen sind so sorgfältig herzustellen, daß nach ihnen ohne weitere Rückfragen Reinzeichnungen angefertigt werden können. Diese werden zur Zeitersparnis den Autoren im allgemeinen nicht vorgelegt, sondern seitens der Redaktion kontrolliert.

Photographische Abbildungen (Autotypien) können gebracht werden, soweit sachlich erforderlich. In vielen Fällen läßt sich jedoch das Wesentliche durch eine (leichter reproduzierbare) Zeichnung ebensogut zeigen.

Korrekturen.

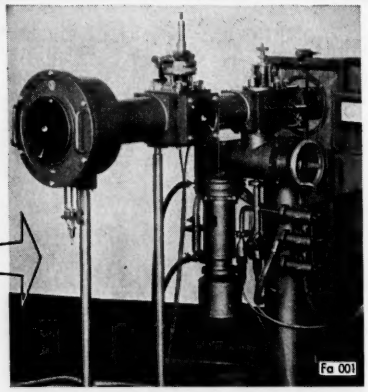
Die Autoren der Aufsätze, Berichte und Buchbesprechungen erhalten eine Fahnenkorrektur, deren umgehende Erledigung und Rücksendung erbeten wird.

Bei den KOM wird zur Beschleunigung des Erscheinens die Korrektur von Text und Abbildungen von der Redaktion besorgt, soweit nicht der Autor bei Einsendung des Manuskriptes ausdrücklich den Wunsch äußert, diese Arbeit selbst vorzunehmen. Bei KOM ohne Figuren soll hierdurch das Erscheinen innerhalb 4 Wochen nach Eingang bei der Redaktion ermöglicht werden.

Hochspannungsanlagen für die physikalische Chemie und Feinstruktur-Röntgen-Kameras

nach **Kratky, Kiessig,**

Debye-Scherrer, Sachs-Weerts u.a.



RICH. SEIFERT & CO
Röntgenwerk · Hamburg 13

DIE NATURWISSENSCHAFTEN

45. Jahrgang Heft 23 (Erstes Dezemberheft) 1958

Mögliche Ursachen der verschiedenen Strahlenempfindlichkeit des Erbmaterials in Keimzellen unterschiedlichen Alters*)

Von HEDI FRITZ-NIGGLI, Zürich

Es erstaunte bereits die Pioniere der Strahlenbiologie aus der Zeit um die Jahrhundertwende, daß Tiere, Pflanzen, Organe, Zellen und Lebenseinheiten unterschiedlich strahlensensibel sind, und zwar innerhalb weiter Grenzen. So wirkt für die adulte Schlupfwespe eine Dosis von mehr als 180000 r sogar lebensverlängernd [*40*], während der strahlenempfindliche Mensch eine Totalkörperdosis von 600 r nicht überlebt. Im Körper findet sich das gleiche Sensibilitätsmuster der Organe, indem die Leber beispielsweise lediglich mit leichten Zellvergrößerungen der Bestrahlung antwortet, während die Milz wenige Stunden nach Bestrahlung schrumpft und verödet. Jedes einzelne Gewebe wiederum besitzt Zellen verschiedener Empfindlichkeit, und die gleiche Zelle reagiert je nach ihrem physiologischen Zustand verschieden. Eine Untersuchung des Wesens der Strahlen-Resistenz und -Sensibilität verspricht in zweifacher Hinsicht Beachtung: 1. kann der Mechanismus der Strahlenschädigung abgeklärt werden, und 2. lassen sich Faktoren bestimmen, die den Strahlenschaden verhindern oder heilen. Eine Arbeitsrichtung, der in der heutigen Zeit der „strahlenden" Energiegewinnung nie zu viel Beachtung geschenkt werden kann.

Die einfachste Deutung der unterschiedlichen Strahlensensibilität besteht darin, daß die Zellen, einfach gleichsam angeboren, eine gewisse Empfindlichkeit oder Resistenz besäßen. Mit dieser Feststellung wird aber nur katalogisiert und nicht analysiert.

Aufschlußreicher ist ein Vergleich der natürlichen Strahlensensibilität und Resistenz mit der experimentell erzeugten. Es zeigte sich nämlich, daß die lebendige Materie keinesfalls in eine starre und unbeeinflußbare Wechselwirkung mit den ionisierenden Strahlen tritt. Die Strahlenreaktion kann vielmehr durch verschiedene Faktoren verändert werden; d. h. nichts anderes, als daß die Wirkung der gleichen Menge absorbierter Energie einfallender Photonen oder Atomteilchen je nach Bestrahlungsbedingungen verschieden sein kann.

Eine der wichtigsten und interessantesten Strahlenreaktionen stellt die Änderung der Erbmasse dar: entsteht doch durch verhältnismäßig kleine Strahlendosen, durch kleinste Strukturänderungen tiefgreifender Schaden, der zudem durch seine besondere Natur weiter auf andere Individuen übertragen werden kann. Dieser Strahlenschaden ist nun ebenfalls von verschiedensten Bedingungen abhängig, und die Mutationsbereitschaft der Keimzellen ist weitgehend durch ihren Entwicklungszustand bestimmt. Die meisten quantitativ auswertbaren Resultate sind an genetischen Studien mit Drosophila melanogaster gewonnen worden, und es sind somit hauptsächlich Drosophila-Experimente, die nun zur Sprache kommen. Der strahleninduzierte Mutationsvorgang bei Säugern stimmt in allen Kriterien mit den aus Drosophila-Versuchen gewonnenen Daten überein.

Prinzipiell unterscheiden wir gemäß ihrer phänotypischen Ausdruckskraft rezessive und dominante sichtbare Mutationen, rezessive und dominante Letalfaktoren, die eine normale Ausbildung eines fertilen Adulten verunmöglichen und die Entwicklung des betroffenen Individuums frühzeitig zum Stillstand bringen, ferner dominante und rezessive Faktoren, welche Stoffwechsel, Vitalität und Fertilität beeinflussen. Nach ihrer materiellen Beschaffenheit gliedern sich die Mutationen in: 1. Verlust oder Überfluß an Chromosomen, 2. Chromosomenstrukturänderungen (Duplikation, Ausfall, Inversion und Translokation von Chromosomenstücken) und 3. sog. Punktmutationen (intragenische Änderung), die bei den heutigen Methoden nicht als Strukturänderungen manifest werden. Strukturmutationen, welche die Lage von Chromosomenstücken ändern, entstehen zweiphasig. Zunächst werden die Chromosomen gebrochen (1. Phase), dann werden die offenen Bruchenden vereinigt (2. Phase). Der Fragmentation folgt zumeist die Wiedervereinigung. Wird der ursprüngliche Zustand wieder hergestellt, dann spricht man von einer Restitution (die Chromosomen „heilen"). Vereinigen sich aber fremde Stücke, dann tritt Rekombination ein. Chromosomenverlust beruht meist auf einer Fragmentation (einphasig), und ebenso ereignen sich Punktmutationen vermutlich in *einem* Geschehen.

Die Rate der strahleninduzierten Mutationen ist nun weitgehend vom Alter der bestrahlten Keimzelle abhängig.

Abhängigkeit der Mutationsentstehung vom Alter der bestrahlten Keimzelle. Bereits 1928 stellte MULLER [*30a*] an Drosophila fest, daß Spermien, die von bestrahlten Spermatogonien stammten, weniger Mutationen aufwiesen als Spermien, die als reife Keimzellen bestrahlt worden waren. HARRIS [*18*], HANSON und WINKLEMAN [*16*] sowie HANSON und HEYS [*17*] veröffentlichten (alle 1929 an Drosophila) quantitative Angaben über eine unterschiedliche Strahlenempfindlichkeit reifer und unreifer männlicher Keimzellen. HARRIS [*18*] beobachtete mit zweckmäßiger Versuchsanordnung, daß reife Spermien bei Bestrahlung weniger rezessive geschlechtsgebundene Letalfaktoren liefern als reifende Spermien. Innerhalb kurzer Zeit ändert die sich entwickelnde männliche Keimzelle ihre Empfindlichkeit. Man hat dieser Tatsache während der darauf folgenden Jahre nur wenig Bedeutung geschenkt, so daß meist mit einem inhomogenen Material gearbeitet wurde. Viele strahlengenetische Experimente sind deshalb revisionsbedürftig.

*) Herrn Professor B. RAJEWSKY zum 65. Geburtstag gewidmet.

In den letzten Jahren wurde diese Abhängigkeit wieder entdeckt, und heute steht fest, daß sich nicht nur Spermatogonien und Oogonien in ihrer Strahlensensibilität von den reiferen Gameten unterscheiden, sondern daß auch in den Phasen zwischen Meiose und reifem Spermium große Unterschiede in der Mutationsbereitschaft bestehen. Dies gilt für dominante Letalfaktoren [27], [12a], [39], [7], für rezessive geschlechtsgebundene Letalfaktoren [2], [26] und Translokationen [9a], [15]. Es entstehen nach ALEXANDER [1a] in Spermatogonien ebenfalls weniger rezessive sichtbare Mutationen als in reifen Spermien. Untersuchungen über die Zahl der rezessiven sichtbaren Mutationen nach Bestrahlung unreifer und reifer Spermien zeigten vorläufig keinen bedeutsamen Unterschied [13].

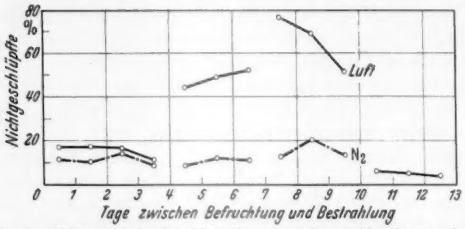


Fig. 1. Abhängigkeit der Mutationsentstehung (dominante Letalfaktoren) bei Drosophila melanogaster vom Alter der bestrahlten Keimzelle und vom Milieu. Bestrahlt wurden Drosophila-Männchen mit 1000 r (180 keV, 6 mA, 1 mmCu) in Luft- und Stickstoffatmosphäre (~100 % N_2), die am 4., 7. und 10. Tag nach Bestrahlung mit neuen unbefruchteten Weibchen gepaart wurden. Es wurde in den vier verschiedenen Zuchten die embryonale Sterblichkeit festgestellt, wobei als Maß für die erzeugten dominanten Letalfaktoren das Nichtausschlüpfen aus der Eihülle gewählt wurde. Normale embryonale Sterblichkeit: 3—4 %

Zweckmäßig lassen sich gemäß ihrer Strahlenempfindlichkeit 4 Stadien der Spermatogenese unterscheiden:

Phase 1: a) unmittelbar vor Befruchtung } reife Spermien
b) nicht unmittelbar vor Befruchtung }

Phase 2: reifende Spermatiden

Phase 3: Spermatozyten in meiotischer Teilung

Phase 4: a) aktive Spermatogonien } Spermatogonien
b) Urspermatogonien }

Bei den weiblichen Keimzellen im Ovar fällt Phase 1 und 2 aus, da bei der Befruchtung die Keimzellen noch in Reifeteilung sind. In den männlichen und weiblichen Gonaden liefert Phase 2 und 3 (reifende Spermatiden, Oozyten, Spermatozyten in Reifeteilung) am meisten dominante oder rezessive Letalfaktoren und Chromosomenbrüche. Über Translokationen liegen widersprechende Resultate vor, zumeist wird aber Phase 2 und 3 [28], [38] als sensibel angegeben. Fig. 1 demonstriert die Produktion dominanter Letalfaktoren in Drosophila zu verschiedenen Zeitintervallen zwischen Befruchtung und Bestrahlung. Die Daten wurden so gewonnen, daß bestrahlte Männchen am 4., 7. und 10. Tag nach Bestrahlung mit neuen jungfräulichen Weibchen gepaart wurden. Es wurden somit 4 Zuchten hergestellt. Als Maß für die Erzeugung dominanter Letalfaktoren wurde das Nichtausschlüpfen des Embryos aus der Eihülle gewählt. Dieser Tod des Embryos ist meist, aber nicht ausschließlich [12a], durch dominante Letalfaktoren bedingt. Wir vermuten, daß die unbestrahlten Eizellen der Zucht 1 mit Spermien befruchtet wurden, die als Spermien und Spermatiden (Phase 1 und 2) bestrahlt worden waren, während die befruchtenden Spermien der Zucht 2 als Spermatiden (Phase 2), diejenigen der Zucht 3 als Spermatiden und Spermatozyten (Phase 2 und 3) und die Spermien der Zucht 4 zumeist als Spermatogonien (Phase 3 und 4) der Bestrahlung ausgesetzt waren. Diese Annahme läßt sich durch Bestrahlung verschiedener Entwicklungsstadien von Drosophila bestätigen. Am wenigsten (Tabelle 1) dominante Letalfaktoren liefern die bestrahlten, eben geschlüpften Larven, deren Gonaden lediglich Spermatogonien enthalten.

Es zeigte sich übrigens, daß Spermatogonien selbst nach Bestrahlung mit 10000 r zum Teil Spermien ohne dominante Mutationen liefern. Reife Spermien sind etwas mutationsbereiter als Spermatogonien. Interessant ist übrigens eine Feststellung von BAKER und HALLE [5a], daß reife Spermien, unmittelbar vor der Befruchtung bestrahlt (Phase 1a), mehr Mutationen liefern als Spermien, die einen Tag nach Bestrahlung (Phase 1b) zur Befruchtung gelangen.

Tabelle 1. *Dominante Letalfaktoren nach Bestrahlung verschiedener Entwicklungsstadien von Drosophila melanogaster-Männchen mit 1000 r (180 keV)*

Als Maß für dominante Letalfaktoren wurde das Nichtausschlüpfen aus der Eihülle gewählt. Normale embryonale Sterblichkeit = 3—4 %.

Bestrahltes Stadium	Total Eier	Davon nicht geschlüpft
2 Std-Larven (Spermatogonien)	1480	105 = 7 %
0—2 Std-Vorpuppen (Spermatozyten) .	1366	1135 = 83 %
48 Std-Puppen (Spermatiden)	1343	979 = 73 %
0—2 Std-Imago (reife Spermien) . . .	3088	513 = 17 %

Diese Befunde sind zum Teil entgegengesetzt dem zytoklastischen (zellschädigenden) Strahleneffekt auf verschiedene Keimzellstadien, indem sich im Säugerhoden die Spermatogonien als die sensibelsten, aber durchaus regenerationsfähigen Elemente ausweisen [36]. Allerdings stimmt die beim Säuger beobachtete Strahlenresistenz der reifen Spermien etwas überein mit der Resistenz ihres Chromosomenmaterials. Reife Spermien sind noch nach außerordentlich hohen Bestrahlungsdosen befruchtungsfähig. So beobachteten wir beispielsweise eine Weiterentwicklung von Drosophila-Zygoten (unbestrahlte Eizelle befruchtet durch Spermien, die mit 80000 r bestrahlt worden waren) bis zur schlüpfreifen Larve.

Das Sensibilitätsmuster für dominante Letalfaktoren ist übrigens dosisabhängig: Es verschiebt sich der Sensibilitätsgipfel mit zunehmender Dosis nach links, d.h., Phase 2 wird am strahlenempfindlichsten. Entsprechend ihrem Entwicklungszustand ist die fertige befruchtungsfähige Eizelle am sensibelsten (Phase 3).

Das genetische Material der Säugetiere verhält sich ebenso wie dasjenige von Drosophila. Selbst die gegenüber Phase 1 erhöhte Mutationsbereitschaft von Phase 2 und 3 wurde bei Säugetieren (Translokationen) nachgewiesen [3], [34].

Um nun diese unterschiedliche Strahlensensibilität des Erbmaterials analysieren zu können, ist es nötig, die Möglichkeiten einer künstlichen Beeinflussung ihrer Empfindlichkeit heranzuziehen. Verschiedene Faktoren verändern die Rate der strahleninduzierten Mutationen, und zwar entfalten sie ihre Wirkung zum

größten Teil, wenn sie während der Bestrahlung hinzugefügt werden, aber auch nach und vor der Bestrahlung. Die einzelnen Phasen, und dies ist für uns das Wesentliche, reagieren unterschiedlich auf gleiche Faktoren.

Eine Änderung der Mutationsrate kann auf folgende Art geschehen: 1. Vermehrung oder Verminderung der Fragmentationen und „Punktmutationsereignisse". 2. Veränderung der Vereinigungsgeschwindigkeit: Schnelle Vereinigung begünstigt die Restitution, also das „Heilen"; verzögerte Vereinigung begünstigt die Rekombination und vermehrt demnach die Strukturänderungen. Die Reunionsbereitschaft kann a) vor, b) während und c) nach der Bestrahlung verändert werden.

Änderungen im O_2-Gehalt des Milieus. Was früher kaum geglaubt werden konnte, ist heute zur Gewißheit geworden: der strahleninduzierte Mutationsvorgang ist zum Teil stark abhängig vom Gasgehalt des Milieus [*6*]. Eindrücklich wird dies bei der Erzeugung dominanter Letalfaktoren nach der Bestrahlung männlicher Drosophilae in N_2-Atmosphäre ersichtlich (Fig. 1). Interessanterweise ist die Schutzwirkung je nach Phase verschieden; so reagiert Phase 1 (reife Spermien) kaum auf Bestrahlung in 100% N_2. Bestrahlung in O_2-Atmosphäre verstärkt dagegen den Effekt in Phase 1.

N_2-Atmosphäre während der Bestrahlung schützt ebenfalls vor rezessiven Letalfaktoren und Brüchen. Bei der Prüfung der Strahlenwirkung auf 5 einzelne Gene (rezessive sichtbare Mutationen) (Phase 2) konnte lediglich für den Mutationsschritt: normales Gen zu Gen vermilion (zinnoberrote Augenfarbe) eine Schutzwirkung der Bestrahlung mit 2000 r in N_2 gegenüber Luft beobachtet werden. Die übrigen Mutationsschritte [*13*] ereigneten sich in Luft und in N_2 gleich häufig. Interessant ist, daß in einer CO_2- oder CO-Atmosphäre bei Tradescantia die Zahl der strahleninduzierten Chromosomenaberrationen vermehrt ist [*24*], [*25*]. Es scheint der O_2-Gehalt der Zelle, die intrazelluläre Sauerstoffspannung eine entscheidende Rolle für den Bestrahlungseffekt zu spielen. Dieser Befund am genetischen Material steht im Einklang zu den Beobachtungen mit anderem biologischem Testmaterial. Tumorzellen und sich teilende Pflanzenzellen werden in Anaerobiose vor dem Strahleneffekt geschützt, wie dies bereits 1933 CRABTREE und CRAMER [*11*] und 1935 MOTTRAM [*29*] gesehen haben.

Die sensibilisierende Wirkung des Sauerstoffes kann nun dadurch zustande kommen, daß die Zahl der Fragmentationen vermehrt wird, oder dadurch, daß die Phase der Reunion beeinflußt wird, indem die Brüche an einer schnellen Wiedervereinigung verhindert werden. Eine schnelle Vereinigung führt zumeist zur Heilung. Es ist nun wahrscheinlich nicht so, daß der Sauerstoff nach der Bestrahlung die Wiedervereinigung verhindert, sondern daß er lediglich während der Bestrahlung die Brüche derart beeinflußt, daß sie weniger bereit für eine Vereinigung sind. Im übrigen scheint die erste Deutung am ehesten sich allen Versuchsresultaten anzupassen, nämlich daß die sensibilisierende Wirkung des Sauerstoffs hauptsächlich durch die Förderung der Fragmentationen zustande kommt.

Der Sauerstoffeffekt spricht für eine indirekte Wirkung der ionisierenden Strahlen, die nicht direkt durch primäre Ionisation am Erfolgsorgan angreifen[1]) Zwischenprodukte wären dann verantwortlich. Man stellt sich z. B. vor, daß das stets im Lebewesen vorhandene Wasser durch die Bestrahlung in H- und OH-Radikale zerfällt, die mit O_2 zu HO_2 und H_2O_2 kombinieren. O_2 begünstigt die Bildung dieser und anderer Stoffe (Peroxyde). Atmungsgifte wie HCN und CO, die z. T. den Strahleneffekt verstärken, können den O_2-Spiegel der Zelle ansteigen lassen. Sie hemmen die Atmung und hindern die Zelle, den angebotenen Sauerstoff zu verwerten, der angehäuft wird. Der vermehrte Sauerstoff kann nun primär die Zahl der Brüche vergrößern oder sie weniger vereinigungsbereit machen, also einer Restitution („Heilung") entgegentreten.

Andere chemische und physikalische Milieufaktoren. Ausgedehnte Versuche sind an pflanzlichen Zellen durchgeführt worden, um die Wirkung von Kälte, Zentrifugieren, Infrarot und Ultraviolett vor, während und nach der Bestrahlung auf die Erzeugung von Chromosomenaberrationen festzustellen. Es geht daraus hervor, daß Infrarot [*42*] vor, während und zum Teil nach der Bestrahlung sensibilisiert, ebenso Zentrifugieren [*43*] während der Bestrahlung. Kälte sensibilisiert [*35b*], und Ultraviolett schützt [*41*], wie in Tabelle 2 dargestellt ist. Mutationen in den Keimzellen lassen sich ebenfalls durch tiefe Temperatur vermehrt induzieren, wie Translokationen und Letalfaktoren [*6*], [*21*], [*23*]. Infrarot vor Bestrahlung vermehrt die Zahl der Chromosomenmutationen bei Drosophila [*22*]. Während der Strahlentod der Säugetiere durch Vorbehandlung mit Cystein, Cysteinamin und anderen chemischen Substanzen [*4*], [*33*] verhindert werden kann, fehlen vorläufig ähnliche Beobachtungen über Mutationen in der Keimzelle. Cystein [*20*] setzt die strahleninduzierte Rate rezessiver geschlechtsgebundener Letalfaktoren nicht herunter. Hingegen konnte mit Blausäure (Vor- und Nachbehandlung) die Zahl der Translokationen bei Drosophila nach Bestrahlung der männlichen Keimzellen in Phase 2 und 3 erhöht werden [*38*].

Wie aus der Zusammenstellung (Tabelle 2) hervorgeht, lassen sich die sensibilisierenden und schützenden Effekte dieser Milieufaktoren im gleichen Sinne deuten: Eine Hemmung der intrazellulären Atmung führt zu einer Nichtverwertung des angebotenen Sauerstoffs, der sich in der Zelle anhäuft. Gleichzeitig wird weniger Adenosintriphosphorsäure (ATP), das Energiedepot der Zelle, hergestellt. Sauerstoff fördert die Zahl der strahleninduzierten Brüche und verhindert vermutlich ebenfalls die Restitution („Heilung") durch die Beeinflussung der Brüche. Nach WOLFF und LUIPPOLD [*44*] ermöglicht ATP die Vereinigung der Fragmente, ebenso eine ungestörte Atmung. Sämtliche atmungshemmenden Faktoren, die nach der Bestrahlung eingesetzt wurden, verhinderten die Wiedervereinigung und machten die Fragmente der Rekombination zugänglicher. Nach diesen Überlegungen müssen Atmungsgifte, welche die innere Zellatmung stören, die Zahl der strahleninduzierten Chromosomenaberrationen mehren, so wie es die Blausäure bei Drosophila tut, und ebenso verhindert

[1]) Es konnte allerdings bei der Bestrahlung fester polymerer Stoffe ebenfalls ein O_2-Effekt beobachtet werden, so daß ein Vorhandensein des O_2-Effekts kein endgültiger Beweis für eine indirekte Strahlenwirkung darstellt.

Tabelle 2. *Milieufaktoren und Strahleneffekt*

Dargestellt sind einige Milieufaktoren, welche den Strahleneffekt verstärken oder verringern. w.B., v.B. und n.B.: Einwirkung während, vor und nach Bestrahlung. Die Zahlen in Klammern sind Literaturhinweise.

Objekt	Strahlungswirkung	Applikation	Effekt	Deutung
Tumorzellen [11]	Hemmt Wachstum	Anaerobiose (N_2) w.B.	schützt	O_2-Entzug, Fragmentation vermindert, Förderung der Restitutionsbereitschaft.
Vicia faba [29]	Hemmt Zellteilung	Anaerobiose (N_2) w.B.	schützt	
Tradescantia [24]	Chrom.aberr.[1])	CO_2 w.B.	sensibilisiert	Atmung gehemmt, O_2 vermehrt, ATP vermindert, Fragmentation vermehrt, Rekombination gefördert (Brüche bleiben offen).
Tradescantia [25]	Chrom.aberr.	CO w.B.	sensibilisiert	
Drosophila [38]	Translokation	HCN v. und n.B.	sensibilisiert	
Tumorzellen [11]	Hemmt Wachstum	HCN w.B.	sensibilisiert	
Vicia faba [29]	Hemmt Zellteilung	HCN w.B.	sensibilisiert	
Drosophila [22]	Translokation	Infrarot v.B.	sensibilisiert	Matrix der Chromosomen verändert?
Tradescantia [42]	Chrom.aberr.	Infrarot v. und n.B.	sensibilisiert	
Tradescantia [43]	Chrom.aberr.	Zentrifug. w. und n.B.	sensibilisiert	Bewegung der Fragmente verstärkt, Reunion verzögert, Restitution verhindert.
Drosophila [21]	Translokation	Kälte 2° w.B.	sensibilisiert	Atmung gehemmt, O_2 vermehrt, ATP vermindert, Fragmentation vermehrt, Rekombination gefördert.
Drosophila [23]	Letalfaktoren	Kälte 0,5° w.B.	sensibilisiert	
Tradescantia [35b]	Chrom.aberr.	Kälte w.B.	sensibilisiert	
Tradescantia [41]	Chrom.aberr.	Ultraviolett v. u. n.B.	schützt	verhindert H_2O_2-Bildung.
Maus [33]	Tod	Cystein v.B.	schützt	bindet O_2.
Maus [4b]	Tod	Cysteinamin v.B.	schützt	

[1]) Chrom.aberr. = Chromosomenaberration.

die gestörte Atmung die Vereinigung der Fragmente[1]). Kälte dürfte ebenfalls die innere Zellatmung herabsetzen und dadurch sensibilisieren. Die Wirkungen von Infrarot und Ultraviolett hingegen liegen ver-

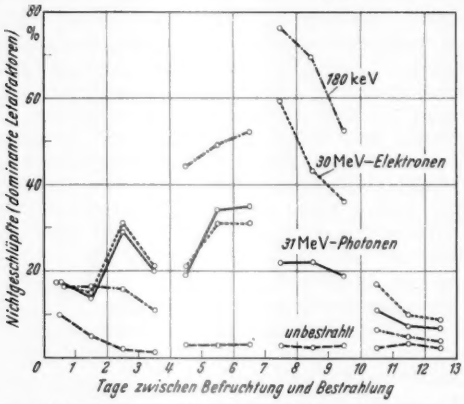


Fig. 2. Abhängigkeit der Mutationsentstehung (dominante Letalfaktoren) bei Drosophila melanogaster von der Strahlenqualität. Es wurden Männchen mit je 1000 r Ionisationsdosis 180 keV-Röntgenstrahlen im Plexiglasphantom, 31 MeV-ultraharte Röntgenstrahlen (Brown-Boveri Betatron) im Plexiglasphantom (Röhm & Haas, Darmstadt) und 30 MeV-Elektronen (Brown-Boveri-Betatron) in Luft bestrahlt und die Mutationsrate zu verschiedenen Tagen nach Bestrahlung festgestellt. Die Männchen wurden am 4., 7. und 10. Tag mit neuen unbefruchteten Weibchen gepaart, so daß 4 Zuchten hergestellt wurden. Es wird ersichtlich, daß in der ersten Zucht die energiereichen Strahlen den 180 keV-Strahlen überlegen sind in ihrer Wirkung, dann in der 2. Zucht gemeinsam unterlegen. In der Zucht 3 separieren sich die 3 Kurven, um sich in Zucht 4 wieder zu nähern. Die unterste Kurve gibt die embryonale Sterblichkeit von Nachkommen unbestrahlter Tiere an

mutlich auf einer anderen Ebene, während die aberrationsfördernde Wirkung des Zentrifugierens für das zweiphasige Zustandekommen der Chromosomenanomalien spricht und die Wichtigkeit der Lagerung der Chromosomenfragmente für ihre Vereinigung unterstreicht. Bewegung hindert die Vereinigung der Bruchstücke zur Ausgangslage und setzt die Möglichkeit der Heilung herab, vergrößert aber die Wahrscheinlichkeit, daß sich fremde Chromosomenfragmente treffen und vereinigen.

Fraktionierung und Verdünnung. Die Intensität, d.h. die Größe der je Zeiteinheit verabfolgten Strahlendosen, spielt bei der Erzeugung genetischer Änderungen vermutlich eine größere Rolle, als oft angenommen wird. Bei der Untersuchung von Pflanzenchromosomen (Tradescantia) ist die Bedeutung der Intensität (Verdünnung oder Konzentrierung) gründlich diskutiert worden [31], [35a] usw. Stets wirkte die konzentrierte Dosis stärker. Im genetischen Test an Drosophila wurde [30b] bei Bestrahlung reifer Spermien kein Einfluß der Intensität auf die Rate der Translokationen gefunden, während verdünnte Bestrahlung unreifer Spermien weniger Translokationen [9b] liefert. Unterteilung in verdünnte Einzeldosen erzeugte nur halb so viele rezessive geschlechtsgebundene Letalfaktoren [19]. Der Fraktionierungs- und Verdünnungseffekt läßt sich folgendermaßen deuten: Intensive Bestrahlung erleichtert die Vereinigung von fremden Chromosomenfragmenten und begünstigt damit die Entstehung von Translokationen und Letalfaktoren, die Strukturänderungen sind. Verdünnte Bestrahlung hingegen fördert die Vereinigung von Fragmenten des gleichen Chromosoms und vermehrt damit die Restitution, die Wiederherstellung der Ausgangslage. Die Resultate der Experimente mit Keimzellen verschiedener Entwicklungsstadien (Drosophila) deuten darauf hin, daß sich die strahleninduzierten Fragmente von Keimzellen in Meiose sofort schließen und vereinigen (etwa in 4 min), während in reifenden und reifen Spermien die Brüche bis zur Befruchtung offen bleiben.

Strahlenqualität. Während im Bereich der Röntgenstrahlen einer Energie von 50 keV bis zu den γ-Strahlen keine Abhängigkeit des genetischen Effektes von der Strahlenqualität besteht, zeigen sich mit Photonen größerer Energie Unterschiede. Die energiereichere Strahlung ist mit der gleichen Ionisationsdosis nicht so wirksam wie die energieärmere. So sind 31 MeV-Photonen und 30 MeV-Elektronen meist in ihrer mutagenen Wirkung den 180 keV-Strahlen unterlegen [12b]. Interessanterweise ist diese Abhängigkeit von der Strahlenqualität je nach bestrahltem Keimzellstadium

[1]) Nach einer anderen Auffassung [38] zerstören Cyanide die Katalase und lassen dadurch strahleninduziertes Wasserstoffsuperoxyd sich anhäufen. Nach eigenen Experimenten übt die allerdings sehr strahlensensible Katalase keine Schutzwirkung aus. Es besteht überdies nach einer wiederum anderen Deutung [25] die Möglichkeit, daß die Atmungsgifte die Cytochrome angreifen und Flavoproteine mobilisieren, welche H_2O_2 produzieren können.

Tabelle 3. *Charakteristika der verschiedenaltrigen männlichen Keimzelle in ihrer Reaktion (Mutationserzeugung) auf Bestrahlung unter wechselnden Bedingungen*

	Spermien Phase 1	Reifende Spermatiden Phase 2	Spermat. in Reifeteilung Phase 3	Spermatogonien Phase 4
Strahlenempfindlichkeit	relativ resistent	sensibel	sensibel	resistent
Intensitätsänderung	indifferent	indifferent (?)	?	abhängig
Ionisationsdichteänderung	indifferent	abhängig	stark abhängig	indifferent
Bestrahlung in N_2	indifferent	Schutzeffekt	Schutzeffekt	indifferent
Intrazelluläre Atmungsgifte v., w. und n.B.	wenig Effekt	sensibilisieren	sensibilisieren	indifferent
Bestrahlung in O_2	sensibilisiert	sensibilisiert	sensibilisiert	?
Aktive Bestrahlungsprodukte	OH-, H-Radikale (eventuell direkter Effekt)	H_2O_2, HO_2 und ähnliche Produkte	H_2O_2, HO_2 und ähnliche Produkte	?
Bruchtypus	bleiben lange offen	?	schließen sich schnell	schließen sich schnell

verschieden ausgeprägt und kann sogar fehlen. Besonders groß sind diese Unterschiede bei der Produktion von dominanten Letalfaktoren nach Bestrahlung verschiedener Stadien der Spermatogenese (Fig. 2). Phase 1 (reife Spermien) ist gegenüber Strahlenqualitätsänderungen relativ unempfindlich, die energiereichen Strahlen sind eher überlegen, in Phase 2 sind die 180 keV-Strahlen den 31 MeV-Photonen und 30 MeV-Elektronen überlegen, während Phase 3 sogar zwischen 30 MeV-Elektronen und 31 MeV-Photonen zu differenzieren vermag. Vergleicht man die Raten von bestimmten rezessiven sichtbaren Mutationen nach Bestrahlung männlicher Keimzellen in Phase 2 mit 180 keV- und 31 MeV-Photonen, dann stellt sich kaum ein Unterschied ein [*37*]. Die strahleninduzierten Mutationsschritte an bestimmten Loci stellen allerdings seltene Ereignisse dar und gestatten keinerlei Aussagen quantitativer Art.

Wir erklären uns die verschiedenen Reaktionen der einzelnen Entwicklungsstadien der Keimzelle auf die Strahlenqualität mit der Möglichkeit, daß ionisierende Strahlen auf verschiedene Art und Weise den gleichen Effekt — Mutation — auslösen können. Grundsätzlich sind 3 Wirkungsweisen möglich: 1. Die Strahlung wirkt durch Ionisation direkt am Erfolgsorgan, ohne Zwischenprodukte. 2. Die Mutationen werden ausgelöst durch freie OH- und H-Radikale, die durch die Bestrahlung des Wassers entstehen. 3. Biologisch wirksam sind erst Sekundär- und Tertiärprodukte der freien Radikale beispielsweise mit gelöstem molekularem Sauerstoff (H_2O_2, HO_2, stabile Peroxyde). Die ionisierenden Strahlen hinterlassen nun bei ihrem Durchgang durch Wasser ein bestimmtes Ionisationsmuster, das sich nach ihrer Energie richtet und sich in OH- und H-Radikale umsetzt. Je energiereicher die Photonen sind, um so weiter liegen die Ionenpaare und damit die freien Radikale auseinander. Es lassen sich so für 31 MeV-Photonen etwa 6—8 Ionenpaare je Mikron Weglänge errechnen, während 180 keV-Strahlen auf der gleichen Länge etwa 100 Ionenpaare produzieren. Die zum Teil in Phase 1 (reife Spermien) überlegene Wirkung der energiereichen, dünn ionisierenden Strahlung könnte nun dadurch zustande kommen, daß in dieser Phase vornehmlich freie Radikale wirken. Freie Radikale sind vermutlich bei der dünn ionisierenden Strahlung langlebiger. Es ist weiterhin möglich, daß in den strahlensensiblen Phasen 2 und 3 der Hauptteil der Schädigung durch H_2O_2 oder HO_2 erzielt wird. Je verteilter nun die Ionenpaare sind, um so weniger Wasserstoffsuperoxyd entsteht durch Rekombination der Radikale, und tatsächlich ist in diesen Stadien die Strahlung mit der geringeren spezifischen Ionisation am wenigsten wirksam.

Um freilich die Ionisationsdichte als beeinflussenden Faktor in der Mutationsentstehung heranziehen zu können, muß ein niedriger „Background" von Ionisationen vorausgesetzt werden. Die Spuren der einzelnen Durchgänge der verschiedenen ionisierenden Teilchen müssen zeitlich und räumlich voneinander getrennt sein. Diese Bedingung ist lediglich bei einer verhältnismäßig niedrigen Dosis erfüllt.

Folgerungen. Aus den oben zitierten Ergebnissen der experimentellen Strahlengenetik werden 3 Phänomene klar: 1. Die verschiedenen Entwicklungsphasen der Keimzellen reagieren unterschiedlich auf Milieufaktoren, Intensitäts- und Strahlenqualitäts-Änderungen (Tabelle 3). 2. Der Stoffwechsel der Zelle ist von wesentlicher Bedeutung für die Strahlenempfindlichkeit oder Resistenz des Erbmaterials. 3. Es ist durchaus möglich, wenn nicht wahrscheinlich, daß zum mindesten bei Chromosomenaberrationen 2 Typen voneinander unterschieden werden können. So entstehen vermutlich durch die Bestrahlung Brüche, die sich sofort schließen, und andere, die lange offen bleiben und zur Vereinigung zusätzlicher Energie bedürfen. Untersuchungen an Pflanzenchromosomen sprechen für die Möglichkeit zweier verschiedener Typen von strahleninduzierten Brüchen [*10*], [*44*].

Deutung der unterschiedlichen Strahlensensibilität des Erbmaterials in Keimzellen verschiedenen Alters. Die reife Keimzelle, die unmittelbarste Umgebung des Erbmaterials, durchläuft die verschiedensten morphologischen und physiologischen Stadien. Aus den Spermatogonien entwickeln sich nach einigen Teilungsschritten die Spermatozyten, die in zwei sich rasch folgenden Teilungen (Meiose) die Zahl der Chromosomen auf die Hälfte reduzieren. Die nun entstandene Keimzelle, die Spermatide, hat die Teilungen abgeschlossen und wandelt sich morphologisch zum reifen Spermium um. Es ist kaum wahrscheinlich, daß der sich stetig ändernde Stoffwechsel der Zelle ohne Einfluß auf die strahleninduzierte Mutationsrate bleibt, im Gegenteil, wir halten es für wahrscheinlich, daß der Stoffwechsel der Zelle wesentlich für Strahlensensibilität und Resistenz der Erbmasse verantwortlich ist. Wie die Experimente uns lehrten, müssen Änderungen im Sauerstoffgehalt der Zelle von besonderer Wichtigkeit sein. In einer sauerstoffgesättigten Zelle werden mehr Mutationen durch die gleiche Ionisationsdosis entstehen als in einer sauerstoffarmen. Der Sauerstoffgehalt der Zelle ändert sich je nach ihrem Funktionszustand, so daß die Variabilität des genetischen Materials in seiner Antwort auf Strahleninsulte gleichsam den sich ändernden Sauerstoffgehalt widerspiegeln würde.

Diese Hypothese wird durch Experimente mit Neutronen unterstützt. Neutronen als indirekt dicht

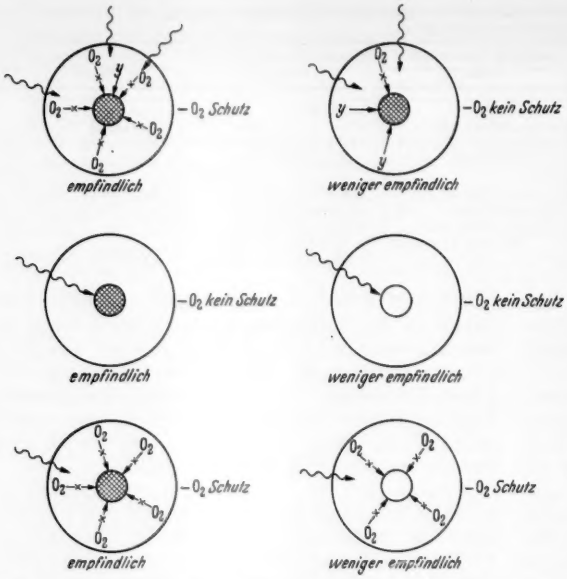


Fig. 3. Ursachen von Strahlensensibilität und Strahlenresistenz. Links: Strahlenempfindliche Systeme. Rechts: Strahlenresistentere Systeme. Der mittlere Kreis stellt das Erfolgsorgan dar, in dem sich die biologische strahleninduzierte Änderung vollzieht. Oben: Beide Erfolgsorgane sind gleich strahlenempfindlich (schraffiert). Das Milieu ist aber verschieden. Die Strahlen greifen durch ein Zwischenprodukt X an, das durch Anwesenheit von O_2 zustande kommt. Vereinzelt O_2-unabhängige Strahlenwirkung (y). Die Anwesenheit von O_2 bedingt die Strahlensensibilität (links) und umgekehrt die Abwesenheit von O_2 die Resistenz (rechts). Im strahlensensiblen Stadium bedeutet O_2-Entzug Schutz. Mitte: Die Erfolgsorgane sind a priori verschieden empfindlich. Die Strahlenwirkung ist direkt. O_2-Entzug schützt nicht. Unten: Die Erfolgsorgane sind a priori verschieden empfindlich. Das Milieu ist gleich oder verschieden, und die Strahlenwirkung geschieht durch ein O_2-abhängiges Zwischenprodukt. O_2-Entzug bedeutet für relativ resistente und sensible Systeme Schutz

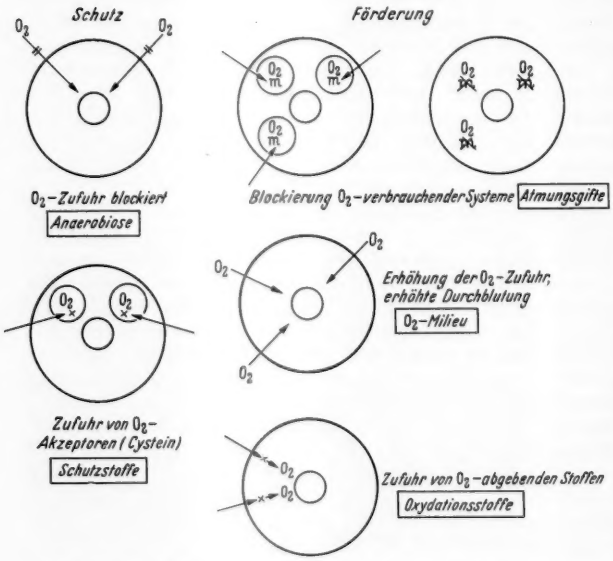


Fig. 4. Schutz und Förderung der Strahlenwirkung. Links oben: Schutz durch Blockierung der externen O_2-Zufuhr. Links unten: Schutz durch intrazelluläre O_2-Ausschaltung. Rechts oben: Sensibilisierung durch Blockieren O_2-verbrauchender Systeme (m). Rechts Mitte: Sensibilisierung durch Erhöhung der O_2-Zufuhr. Rechts unten: Sensibilisierung durch Zufuhr O_2-abgebender Stoffe

ionisierende Korpuskularstrahlen wirken auf das biologische Reaktionssystem ein, ohne von der An- oder Abwesenheit des O_2 beeinflußt zu werden. Der Sauerstoffeffekt tritt hier kaum auf. Tatsächlich wirken die Neutronen uniform, d.h., das Lebewesen reagiert einheitlicher. Der Strahlensensibilitätsunterschied der Phase 1a und 1b (reifes Spermium bestrahlt unmittelbar vor und einen Tag vor Befruchtung) tritt nach Neutronenbestrahlung nicht mehr auf [*5b*], [*28*].

Eine atmende Zelle verwertet den angebotenen Sauerstoff, sie ist demnach relativ O_2-arm, aber reich an energiereichen Verbindungen (ATP). O_2-Armut begünstigt die Strahlenresistenz, und ebenso fördern ATP und die ungestörte Atmung die „Heilung", so daß in der atmenden Zelle die Erbmasse relativ geschützt wäre. In den mitotisch aktiven Zellen hingegen überwiegen energieverzehrende Reaktionen. Die sich teilende Zelle atmet weniger. Der O_2-Spiegel ist hoch, der ATP-Gehalt herabgesetzt, so daß sich die Chromosomen in einem strahlenfreundlichen Milieu befinden. Phase 3 ist strahlensensibel und umfaßt die sich rasch teilende Zelle. Der O_2-Überfluß macht sich noch in Phase 2 bemerkbar, und erst in reifen Spermien setzt vermutlich die Atmung wieder ein. Weil nun das reife Spermium kurz vor Befruchtung wieder empfindlicher wird, kann angenommen werden, daß sich die Zelle zur kommenden ersten Furchungsteilung vorbereitet (Atmungshemmung). Gleichzeitig folgern wir, daß die Mutationen der Phase 1 (O_2-armes Milieu) eher durch OH- und H-Radikale produziert werden oder sogar durch direkte Ionisationseffekte (im Sinne direkter Treffer). Eine Änderung im O_2-Gehalt der Zelle beeinflußt den Strahleneffekt unwesentlich. In Phase 2 und 3 wirken Sekundär- und Tertiärprodukte (Verbindungen mit O_2), und jede Verarmung des O_2-Gehaltes wirkt als Schutz. Neuerdings hat übrigens OSTER [*32*] zur Interpretation der verschiedenen Strahlensensibilität von Spermien und Spermatiden ebenfalls den Sauerstoffgehalt der Zelle herangezogen.

Selbstverständlich gesellen sich zu dieser möglichen Ursache der unterschiedlichen Strahlensensibilität noch andere modellierende und bestimmende Faktoren: So germinale Selektion und Chromosomen-Bewegung. Die meiotische Teilung stellt vermutlich eine Schranke dar (ebenso die Gonien-Teilungen), welche grobe Strukturänderungen ausmerzt. Die geringe Ausbeute an Chromosomen-Mutationen bestrahlter Spermatogonien und Oogonien mag sicherlich zum größten Teil durch germinale Selektion bedingt sein. Wir haben übrigens beobachtet, daß nach Bestrahlung von Drosophila-Puppen die ersten Spermien, die zur Befruchtung gelangen, weniger dominante Letalfaktoren aufweisen als die nachfolgenden. Die „normalen" haben sich vermutlich schneller entwickelt. Neben der Selektion dürfte ebenfalls die Bewegung der Chromosomen eine

Rolle spielen. In einer sich teilenden Zelle ist die Wahrscheinlichkeit einer Rekombination größer als in der ruhenden, in der Restitution (Heilung) vorwiegen dürfte. Ebenso dürften osmotische Änderungen, Unterschiede im Ionengehalt der Zelle den Reaktionsmechanismus modellieren. Wir vermuten, daß diese Änderungen für ursprünglich physiologische Strahleneffekte verantwortlich sind, die wieder rückgängig gemacht werden können. Mit geringsten Strahlenmengen können reversible Effekte ausgelöst werden (Aktivitätshemmung von strukturell gebundenen Enzymsystemen, Mitosehemmung usw.), Effekte, die vermutlich durch geringe Verschiebungen im Ionenhaushalt der Zelle bedingt werden.

Strahlenresistenz und Strahlenempfindlichkeit von Zellen, Organen und Organismen. In ähnlicher Weise, wie wir die unterschiedliche Strahlensensibilität des genetischen Materials gedeutet haben, lassen sich auch zum Teil Strahlenempfindlichkeit und Strahlenresistenz von Zellen, Organen und Organismen erklären. Prinzipiell bestehen 3 Möglichkeiten für eine verschiedene Strahlensensibilität der Zellen, Organe und Lebewesen (Fig. 3). Dargestellt sind links die strahlenempfindlichen Systeme (z.B. Gene in Spermatozyten) und rechts die strahlenresistenteren Systeme (Gene in reifen Spermien). Das Erfolgsorgan, in dem sich die Strahlenschädigung ereignen muß (die Chromosomen und Gene), sind als mittlerer Kreis angegeben. Der große Kreis stellt somit die Umgebung der zu ändernden Einheit dar. Es können nun 1. die Erfolgsorgane in beiden Systemen gleich empfindlich sein (Fig. 3 oben), das Milieu aber verschieden, indem im strahlensensiblen System Sauerstoff vorhanden ist. Wenn nun für die Strahlenschädigung Zwischenprodukte X notwendig sind, die durch O_2 begünstigt werden, dann bedingt die Anwesenheit von O_2 die Strahlenempfindlichkeit (links) und die Abwesenheit von O_2 (rechts) relative Strahlenresistenz. Bestrahlung in O_2-freier Atmosphäre schützt das an und für sich sauerstoffarme System nicht.

2. Die Strahlenwirkung kann direkt an den Erfolgsorganen ansetzen (Fig. 3, Mitte), die verschieden empfindlich sind. Das Milieu und ein künstlicher Sauerstoffentzug spielen keine Rolle, da an der schädigenden Wirkung der Strahlen der Sauerstoff nicht beteiligt ist. Der 3. Mechanismus besteht in einer Kombination der ersteren beiden Möglichkeiten: Milieu und Beschaffenheit des Erfolgsorgans sind verantwortlich für die Strahlenempfindlichkeit des Systems. Da der Sauerstoff in beiden Systemen zum Strahlenschaden beiträgt, schützt beiderseits Bestrahlung in O_2-freier Atmosphäre.

Dieses Geschehen könnte für Zellen und Organe von großer Bedeutung sein. Die unterschiedliche Strahlensensibilität von Zellen in verschiedenem Funktionszustand und von Zellen verschiedener Organe wäre demnach hauptsächlich ein Ausdruck einer physikalisch-chemischen Änderung des Milieus, durch welches die Strahlenenergie zum Erfolgsorgan diffundiert. So dürfte auch die Tatsache der großen Strahlenempfindlichkeit von Geweben in voller mitotischer Aktivität eine zusätzliche Deutung erfahren. Sich teilende Zellen atmen weniger als ruhende. So atmet das Gewebe einer regenerierenden Rattenleber zum Zeitpunkt der stärksten Zellvermehrung weniger als die mitotisch inaktive Leber [*14*]. Intrazellulär dürfte der O_2-Verbrauch sich teilender Zellen niedrig sein, während die extrazelluläre Sauerstoffzufuhr unverändert aufrecht erhalten wird: In der Zelle wird dadurch Sauerstoff angereichert und damit die Empfindlichkeit gegenüber der Strahlung erhöht. Im Gegensatz dazu sind Zellen in vollster Stoffwechselaktivität, wie die sich nicht teilende Leberzelle, außerordentlich strahlenresistent, was zum Teil durch einen niedrigeren intrazellulären O_2-Gehalt bedingt sein dürfte. Bei sehr dicht ionisierenden Strahlen spielt der Milieueffekt kaum eine Rolle. Tatsächlich reagieren die Lebewesen auf Neutronenstrahlen einheitlicher. So fällt die Wachstumshemmung von Pflanzenkeimlingen durch die gleiche Dosis gewöhnlicher Röntgenstrahlen für die einzelnen Individuen verschieden groß aus. Die individuelle Variabilität beherrscht das Bild. Anders nach Neutronenbestrahlung: Das Längenwachstum wird einheitlich reduziert und die einzelnen Keimlinge reagieren uniform. Vermutlich wird die individuelle Variabilität durch unterschiedliches intrazelluläres Milieu, wie variable O_2-Spannung bedingt.

Die verschiedenen Schutzmöglichkeiten der Lebewesen vor dem Strahlenschaden bestätigen ebenfalls die große Rolle des Sauerstoffs für den Strahleneffekt. Die O_2-Zufuhr kann blockiert werden, indem die äußere Atmung z.B. unterbunden wird (Fig. 4). Dies kann durch jene Atmungsgifte bei Säugern geschehen, welche den Sauerstofftransport zu den strahlengefährdeten Organen unterbinden. So schützt eine Behandlung mit NaCN vor der Bestrahlung [*4a*] die Säuger vor dem Strahlentod, indem vermutlich der O_2-Transport zum Erfolgsorgan oder zu den Erfolgsorganen ausbleibt. In Anaerobiose (N_2-Atmosphäre) wird ebenfalls die O_2-Zufuhr unterbunden. Ebenso kann intrazellulär der Sauerstoff durch O_2-Akzeptoren wie Cystein abgefangen werden. Tatsächlich schützt Cystein ebenfalls lokal.

Durch die Blockierung O_2-verbrauchender Systeme in der Zelle wird intrazellulär O_2 akkumuliert und damit die Strahlenreaktion gefördert. CRABTREE und CRAMER beobachteten bereits 1933 die sensibilisierende Wirkung von HCN auf Krebszellen. CO_2 und CO fördern ebenfalls die Chromosomenaberrationen, indem intrazelluläre Atmungssysteme blockiert werden. Tiefe Temperatur ist gleichfalls als intrazelluläres Atmungsgift zu betrachten, das die Strahlenresistenz herabsetzt. Durch erhöhte Durchblutung kann von außen der O_2-Spiegel und damit die Strahlensensibilität erhöht werden. Andererseits sensibilisieren O_2-abgebende Stoffe (Oxydationssubstanzen) die Zellen gegenüber Strahlenschäden.

Zusammenfassung. Die strahleninduzierte Mutationsrate ist abhängig vom Alter der Keimzelle. Der Mutationsvorgang läßt sich durch verschiedene Faktoren beeinflussen; so fördern Sauerstoff, Kälte, intrazelluläre Atmungsgifte usw. die Mutationsentstehung, während Bestrahlung in Stickstoff schützt, und ebenso kann die Mutationsrate durch verschiedene Strahlenqualität und Konzentration der Strahlenmengen verändert werden. Die verschiedenen Entwicklungsphasen der Keimzelle reagieren unterschiedlich auf diese sensibilisierenden oder schützenden Faktoren. Diese und andere Überlegungen führen uns zur Vermutung, daß die unterschiedliche Strahlensensibilität des genetischen Materials wenigstens teilweise durch Änderungen im intrazellulären Sauerstoffgehalt bedingt ist. Ent-

sprechend ihrem Funktionszustand besitzt die Zelle einen verschieden großen frei verfügbaren Sauerstoffvorrat; so ist die Atmung der Zelle in Teilung gehemmt, der angebotene Sauerstoff reichert sich an und verstärkt die Strahlenempfindlichkeit, während die Zelle in voller Stoffwechselaktivität den Sauerstoff verwertet und dadurch strahlenresistenter wird.

Literatur

[1] Alexander, M. L.: a) Genetics 39, 409 (1954). — b) Proc. V. Intern. Conf. Radiobiol., Stockholm 1956. — Advances in Radiobiology, p. 8. Edinburgh: Oliver & Boyd 1956. — [2] Auerbach, C.: Z. indukt. Abstamm.- u. Vererb.-Lehre 86, 113 (1954). — [3] Auerbach, C., u. B. M. Slizynski: Nature [London] 177, 376 (1956). — [4] Bacq, Z. M., u. A. Hervé: a) Brit. J. Radiol. 24, 617 (1951). — b) Bull. Acad. Roy. Méd. Belgique 17, 13 (1952). — [5] Baker, W. K., u. E. S. von Halle: a) Proc. Nat. Acad. Sci. 39, 152 (1953). — b) Science [Lancaster, Pa.] 119, 46 (1954). — [6] Baker, W. K., u. E. Sgourakis: Proc. Nat. Acad. Sci. 36, 176 (1950). — [7] Bateman, A. J.: Nature [London] 178, 1278 (1956). — [8] Caldecott, R. S., E. F. Frolik u. R. Morris: Proc. Nat. Acad. Sci. 38, 804 (1952). — [9] Catsch, A., u. Gh. Radu: a) Naturwiss. 31, 391 (1943); b) Naturwiss. 31, 419 (1943). — [10] Cohn, N. S.: Genetics 41, 639 (1956). — [11] Crabtree, H. G., u. W. Cramer: Proc. Roy. Soc. Biol. B 113, 238 (1933). — [12] Fritz-Niggli, H.: a) Proc. Intern. Conf. Geneva 11, 179 (1955). — b) Naturwiss. 45, 117 (1958). [13] Fritz-Niggli, H., u. W. Schmid: In Publ. 1958. — [14] Fritz-Niggli, H., u. H. Steiner: Oncologia [Basel] 10, 117 (1958). — [15] Glass, B.: „Mutation", Brookhaven Symp. in Biology No 8, p. 148, 1955. — [16] Hanson, F. B., u. E. Winkleman: J. Hered. 20, 227 (1929). — [17] Hanson, F. B., u. F. Heys: Amer. Naturalist 63, 511 (1929). — [18] Harris, B. B.: J. Hered. 20, 299 (1929). — [19] Herskowitz, I. H., u. S. Abrahamson: Drosophila Inf. Serv. 29, 125 (1955). — [20] Höhne, G., H. A. Künkel u. R. Struckmann: Naturwiss. 42, 491 (1955). — [21] Kanellis, A.: Naturwiss. 33, 27 (1946). — [22] Kaufmann, B. P., H. Gay u. H. Rothberg: J. Exp. Zool. 111, 415 (1949). — [23] King, E. D.: Genetics 32, 161 (1947). — [24] King, E. D., u. H. A. Schneiderman: Proc. Nat. Acad. Sci. 38, 809 (1952). — [25] King, E. D., H. A. Schneiderman u. K. Sax: Proc. Nat. Acad. Sci. 38, 43 (1952). — [26] Khishin, A. F. E.: Z. indukt. Abstamm.-. u. Vererb.-Lehre 87, 97 (1955). — [27] Lüning, K. G.: Hereditas 38, 91 (1952). — [28] Lüning, K. G., u. St. Jonsson: Nature [London] 178, 1123 (1956). — [29] Mottram, J. C.: Brit. J. Radiol. 8, 643 (1935). — [30] Muller, H. J.: a) Z. indukt. Abstamm.- u. Vererb.-Lehre Suppl. 1, 234 (1928). — b) J. Genetics 40, 1 (1940). — [31] Newcombe, H. B.: J. Genet. 43, 237 (1942). — [32] Oster, I. I.: Genetics 42, 387 (1957). — [33] Patt, H. M., E. B. Tyree, R. L. Straube u. D. E. Smith: Science [Lancaster, Pa.] 110, 213 (1949). — [34] Russell, W. L.: Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 16, 327 (1951). — [35] Sax, K.: a) Proc. Nat. Acad. Sci. 25, 225 (1939). — b) Genetics 32, 75 (1947). — [36] Schinz, H. R., u. B. Slotopolsky: Ergebn. med. Strahlenforsch. 1, 443 (1925). — [37] Schmid, W.: Oncologia [Basel] 1958 (in Publ.). — [38] Sobels, F. H.: Proc. V. Intern. Conf. Radiobiol., Stockholm 1956. Advances in Radiobiology, p. 449. Edinburgh: Oliver & Boyd. — [39] Steger, R.: Oncologia [Basel] 9, 12 (1956). — [40] Sullivan, R. L., u. D. S. Grosch: Nucleonics 11, 21 (1953). — [41] Swanson, C. P.: Genetics 29, 61 (1944). — [42] Swanson, C. P., u. A. Hollaender: Proc. Nat. Acad. Sci. 32, 295 (1946). — [43] Wolff, S., u. R. C. v. Borstel: Proc. Nat. Acad. Sci. 40, 1138 (1954). — [44] Wolff, S., u. H. E. Luippold: a) Radiation Res. 3, 358 (1955). — b) Proc. Nat. Acad. Sci. 42, 510 (1956).

Zürich, Röntgeninstitut der Universität und Strahlenbiologisches Laboratorium

Eingegangen am 19. Juli 1958

Über den verschluckbaren Intestinalsender für p_H-Wert-Signalisierung

Von M. von Ardenne und H. B. Sprung

In verschiedenen Mitteilungen[1]) berichteten wir ausführlich über die Entwicklung und Ergebnisse eines verschluckbaren Intestinalsenders für die Signalisierung von Druckwerten und kurz über die Entwicklung eines Senders für die Signalisierung von p_H-Werten. In Ergänzung der zitierten Veröffentlichungen soll nunmehr auch die *Ausführungsform für p_H-Wert-Signalisierung aus dem Magen- und Darm-Trakt* näher beschrieben und über Versuchsergebnisse berichtet werden.

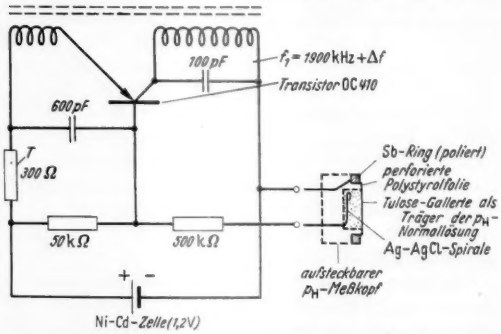


Fig. 1. Schaltung des temperaturkompensierten, verschluckbaren Intestinalsenders für Signalisierung des p_H-Wertes. *T* Herabsetzung des Temperatureinflusses

Der verschluckbare Intestinalsender für p_H-Wert-Signalisierung aus dem Körperinnern besitzt bei einem Durchmesser von 8 mm einschließlich des aufsteckbaren p_H-Wert-Meßkopfes eine Länge von 28 mm. Die Einheit wird durch eine dünne Gummihülle geschützt mit Ausnahme der Stirnfläche des Meßkopfes, die unmittelbar von den Körperflüssigkeiten benetzt werden muß. Die Schaltung dieser Ausführungsform des Intestinalsenders ist in Fig. 1 wiedergegeben. Insbesondere sind aus ihr Einzelheiten über die Ausgestaltung des p_H-Wert-Meßkopfes zu entnehmen.

Unsere Versuche haben, wie vorweggenommen werden soll, gezeigt, daß oft auch schnell ablaufende p_H-Wert-Änderungen vorkommen (unter anderem bei plötzlichen Ortsänderungen des Senders im Magen oder nach der Aufnahme von Medikamenten oder beim Übertritt des Intestinalsenders vom Magen in den Zwölffingerdarm). Um auch diese schnellen Änderungen mitzuerfassen, haben wir den Weg der direkten p_H-Wert-Messung gewählt. Die Ausgangsspannung eines Meßsystems mit Antimon-Elektrode[2]) in Mikrobauweise dient unmittelbar als Steuergröße. Da die Antimon-Elektrode vor jedem Einsatz gut poliert wird und die wichtigen Bereiche des Magen-Darm-Traktes in verhältnismäßig kurzer Zeit (etwa 3 Std) durchläuft, dürften bei der vorliegenden Problemstellung keine Bedenken gegen ihre Anwendung bestehen.

Durch die Änderung der Klemmenspannung am Ausgang des p_H-Wert-Meßkopfes wird die Frequenz des Intestinalsenders geändert. Die Änderung der Senderfrequenz ($\approx$ 1900 kHz) beträgt pro p_H-Einheit $\Delta f \approx 1750$ Hz. Innerhalb des Meßbereiches von $p_H = 1$ bis 8,5 verläuft die Eichkurve ziemlich linear.

Da nicht nur p_H-Wert-Änderungen, sondern auch die absolute Größe des p_H-Wertes signalisiert werden soll, kommt es darauf an, daß der Sender eine sehr hohe Frequenzkonstanz über Zeiträume von vielen Stunden besitzt. Daher erfolgt im Interesse der Meßgenauigkeit die Speisung des Senders nicht aus einer Mikrobatterie (welche noch kleinere Abmessungen erlaubt hätte), sondern aus einem Knopfakkumulator. Aus dem gleichen Grunde wurde in der Transistorsendeschaltung ein Gegenkopplungswiderstand vorgesehen zur Herabsetzung des Temperatureinflusses.

Das Blockschaltbild des *Hochfrequenz-Meßempfängers* ist in Fig. 2 wiedergegeben. Als Meßempfänger dient eine Überlagerungsanordnung mit einem Vergleichssender höchster

Frequenzkonstanz. Aus der Änderung Δf der Schwebungsfrequenz gegenüber dem Anfangswert der Schwebungsfrequenz ergibt sich nach Maßgabe der vor dem Verschlucken des Senders aufgenommenen p_H-Eichkurve der jeweilige p_H-Wert am Ort des Intestinalsenders. Durch die Entwicklung und Hochzüchtung eines amplituden-unabhängigen Impulsstromverfahrens konnte erreicht werden, daß die Frequenzwertbestimmung innerhalb der Amplitudengrenze 1:100 praktisch unabhängig von der Amplitude ist. Diese Entwicklung, die eine fortlaufende automatische Registrierung ermöglicht hat, war notwendig, weil wegen der Richtcharak-

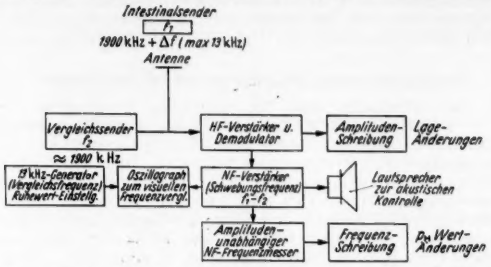


Fig. 2. Blockschaltbild des Meßempfängers für die fortlaufende gleichzeitige Registrierung von p_H-Werten und Lageänderungen des Intestinalsenders

teristik des Intestinalsenders eine gewisse Abhängigkeit der Eingangsspannung am Meßempfänger von der jeweiligen Lage der Hauptsache des Intestinalsenders im Körperinnern gegenüber der Antenne besteht. Die zuvor genannte Eigenschaft, die den Meßempfänger etwas kompliziert, läßt sich gemäß Fig. 2 dazu ausnutzen, um auf einem zweiten Kanal gleichzeitig auch die *Lageänderungen des Senders unabhängig vom örtlich herrschenden p_H-Wert mitzuregistrieren.*

Vor dem Verschlucken des Intestinalsenders wurde eine Ausheberung am ruhenden Magen der Versuchsperson vermittels Magenschlauches durchgeführt. Das gewonnene Nüchternsekret zeigte bei der p_H-Prüfung mit Farbindikator nahezu neutrale Reaktion und bei Titrierung eine gebundene Gesamtazidität von 9 ml n/10 Na OH auf 1000 ml. Freie HCl war nicht nachweisbar. Diese Werte wurden zur Kontrolle der nun folgenden Registrierungen durch den Intestinalsender aufgenommen. In Fig. 3 sind *die vom Intestinalsender signalisierten p_H-Werte* graphisch zur Darstellung gebracht.

Zur Meßzeit 1^{00} wird der zur p_H-Wertbestimmung geeichte Sender verschluckt. Er signalisiert einen p_H-Wert von 6,2 als Nüchternwert im ruhenden Magen. Nach der Injektion von 1 ml Histamin 0,1% zur Uhrzeit 1^{06} tritt eine sehr rasche Säuerung ein, die ihren höchsten Wert mit $p_H = 1{,}6$ zur Meßzeit 1^{37} erreicht. Die Dauer der Histaminwirkung stimmt somit bei unserer Messung mit den bisher aus der Literatur bekannten Zahlen überein. Danach steigen die p_H-Werte wieder langsam an. 1^{53} wird der Versuchsperson Saft einer gepreßten Zitrone verabreicht, was ein jähes Absinken des p_H-Wertes auf 1,5 zur Folge hat. Die plötzliche Säurezufuhr löst rasche Schwankungen des p_H-Wertes um 0,3 bis 0,4 aus. Diese Schwankungen im p_H-Wert dürfen als Mischungseffekt der Magenperistaltik gedeutet werden. Schon 2^{10}, also nach 17 min, ist aber der 1^{53} durch Einnahme der Zitrone veränderte Anfangswert wieder erreicht. Der langsame Anstieg des p_H-Wertes nach Abklingen der Histaminwirkung setzt sich nun von p_H 1,8 bis p_H 2,4 gleichbleibend fort, bis dann bei Rechtslage der Versuchsperson zur Meßzeit 2^{52} ein kurzer Ausschlag bis nahe zum Neutralpunkt ($p_H = 5{,}8$) erfolgt, um danach wieder auf saueren Bereich ($p_H = 2{,}7$) zurückzupendeln. Gleich darauf aber (Meßzeit 2^{55}) vollzieht sich der endgültige Wechsel über den Neutralpunkt hinaus auf die alkalische Seite. Der zweimalige Ausschlag nach der alkalischen Seite mit einem

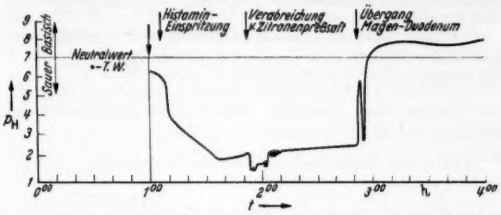


Fig. 3. Mit dem verschluckbaren Sender für p_H-Wert-Signalisierung erhaltene Registrierung. *T.W.* Titrationswert ($p_H = 6{,}2$) bei Ausheberung des ruhenden Magens um 0^{30} Uhr. Der Pfeil bei 1^{00} gibt das Verschlucken des Senders an

Intervall von 2 min entspricht dem an anderer Stelle[3]) vermittels der Druck- und Lageregistrierung durch den Intestinalsender veröffentlichten typischen Austreibungsmechanismus aus dem Antrum des Magens. Der kurze erneute Abfall zu niederen p_H-Werten dürfte mithin als ein zweiter, im üblichen Rhythmus erfolgter saurer Schub aus dem Magen in das Duodenum aufzufassen sein. Im Ablauf einer weiteren Stunde steigt der p_H-Wert langsam auf $p_H = 8$. Aus dem Kurvenverlauf dürfen wir folgern, daß der Sender zur Meßzeit 2^{55} aus dem sauren Magen in das alkalische Milieu des Duodenums übergetreten ist.

Die vorstehenden Entwicklungsarbeiten erfolgten mit finanzieller Unterstützung des Ministeriums für Gesundheitswesen. Unseren Mitarbeitern L. Haase, H. Mielke und H. Rackwitz haben wir für ihre unermüdlichen Hilfen bei der Ausbildung des p_H-Wert-Intestinalsenders zu danken.

Forschungsinstitut Manfred von Ardenne, Dresden, Weißer Hirsch M. von Ardenne

Chirurgische Klinik der Medizinischen Akademie „Carl-Gustav-Carus", Dresden A 16 H. B. Sprung

Eingegangen am 30. August 1958

[1]) Ardenne, M. v., u. H. B. Sprung: a) Naturwiss. **45**, 154 (1958). — Z. inn. Med. b) **13**, 269; c) **13**, 596 (1958). — [2]) Siehe z. B. Schwabe, K.: Fortschritte der p_H-Meßtechnik, S. 76ff. Berlin: Verlag Technik 1953. — [3]) Siehe [1c]), Fig. 6.

Kurze Originalmitteilungen

Für die Kurzen Originalmitteilungen sind ausschließlich die Verfasser verantwortlich

Ergebnisse der Fehlerfortpflanzungsrechnung bei der Lösung von Faltungsintegralgleichungen und ihre Bedeutung für Informationsmöglichkeiten in der Natur

In zwei früheren Arbeiten[1]) wurde gezeigt, daß die Grenzen der Informationsmöglichkeiten in der Optik und in der Nachrichtentechnik — und in der Natur schlechthin — nicht aus dem Expansion- bzw. dem Sampling-Theorem quantitativ entnommen werden können. So sagt die geläufige Beziehung

$$W \cdot \Delta t = \tfrac{1}{2} \qquad (1)$$

nur aus, daß eine am Ausgang des Nachrichtenkanals mit der Bandbreite 2W beobachtete Nachricht unmittelbar als Ersatz der Originalnachricht hingenommen werden kann, wenn man sich mit einer Zeitauflösung Δt begnügt. Die Informationsmöglichkeiten selbst sind durch solche Beziehungen nicht erfaßt; sie gründen sich vielmehr auf die Fehlerfortpflanzungsgesetze bei der Lösung der Integralgleichungen[1b]), die von der am Ausgang eines Nachrichtenkanals beobachteten verzerrten Nachricht auf die am Eingang eingegebene Originalnachricht schließen lassen. Das allgemeinste Ergebnis der Fehlerfortpflanzungsuntersuchung ist freilich kompliziert, da die speziellen Eigenschaften des Nachrichtenkanals sich auswirken; es kann jedoch unter realen Standardverhältnissen kurz so formuliert werden:

An einen echten Nachrichtenkanal wird eingangs eine Nachricht (Signal) aus C Informationseinheiten je sec gegeben. Die Anzahl der am Kanalausgang einwandfrei richtig erkenn-

baren Informationseinheiten im Verhältnis zu ihrer Gesamtzahl ist dann

$$S = \exp\left(-2\pi\alpha\beta C\,\frac{n_{RE}+q}{N_{SE}} - 2\alpha^2\beta C^2\,\frac{1}{W^2}\,\frac{N_{RA}+qW\gamma}{N_{SA}}\right). \quad (2)$$

Diese Größe heißt „Sicherheit" der Übermittlung; sie ist also durch Störungen und Quantenstatistik beschränkt.

Bezeichnungen: C = Anzahl der Informationseinheiten je sec in der Nachricht. — $2W$ = Bandbreite des Nachrichtenkanals in Hz. — N_{SE} = Signalleistung am Kanaleingang. — N_{SA} = Signalleistung am Kanalausgang. — N_{RA} = Leistung der „quasiweißen" Fehlerquelle, die am Kanalausgang wirksam wird. — n_{RE} = Spektrale Leistungsdichte der in den Kanaleingang einstreuenden „weißen" Störung je Hz. — q = Energie eines Quants.

α, β und γ sind dimensionslose Zahlen, noch abhängig von apparativen Einzelheiten (z.B. der Bandgestalt). α und β sind meist in der Größenordnung 1; γ ist größer als 1.

Die Nachricht wurde in Informationseinheiten standardisiert angenommen. Andere Nachrichtentypen können in bekannter Weise hierauf reduziert werden.

Institut für Angewandte Physik der Universität, Marburg a.d.Lahn

HANS WOLTER

Eingegangen am 30. September 1958

[1]) WOLTER, H.: a) Physica **24**, 457 (1958). — b) Arch. elektr. Übertragung **12**, 335 (1958).

On the Possibility of Electromagnetic Damping of the Moon's Motion

The tidal friction theory encounters considerable difficulties in attempting a quantitative interpretation of the peculiarities of the Moon's motion[1]). It is therefore desirable to investigate the possibility of other effects that could be responsible for these peculiarities and, in particular, could cause the Moon to keep a constant face toward the Earth as well as produce a secular accelaration of the Moon's mean motion.

A possible effect capable of influencing the motion of a body in the above manner is the induction drag experienced by bodies moving through plasma in the presence of a magnetic field. The magnetic field may be of internal or external origin; in either case electric currents are induced in the body and a retarding force or torque is produced upon the body. In the case of a solid sphere, whose rotational axis lies in the direction of the field, the time constant of rotational damping is approximately

$$\gamma = \frac{\sigma_1\,\sigma_2}{2\sigma_1 + 3\sigma_2}\,\frac{B^2}{d} \qquad [\mathrm{sec}^{-1}] \quad (1)$$

where σ_1 is the conductivity of the sphere, σ_2 is the effective conductivity of surrounding plasma, d is the density of the sphere, and B is the magnetic flux density in the sphere[2]). Setting $1/\gamma \approx 10^9$ years, (age of the solar system), $\sigma_1 \approx 10^{-3}$ A/Vm (average conductivity of rock formations), $d \approx 10^3$ kg/m³, and assuming $\sigma_2 \approx 10^{-5}$ A/Vm for the lowest limit of the effective conductivity of interplanetary space[3]), we obtain $B \approx 10^{-4}$ Vs/m² = 1 gauss as the lowest value for the magnetic field capable of producing sufficiently strong damping within the time available since the beginning of the solar system. Thus, if the Moon ever had a magnetic field comparable to that of the Earth, or if it ever was exposed to one, the magnetic damping of the Moon's rotation should be approximately as strong as the estimated tidal friction damping[1]).

It should be mentioned that bodies surrounded by a layer of poorly conducting atmosphere (the Earth, for instance) may not experience any appreciable induction drag, since the currents induced in this case are too small. Thus, only objects without an insulating atmosphere should keep a constant face toward their central body, provided, of course, that only the induction drag is responsible for the damping.

As far as the orbital motion is concerned, the induction drag should produce a decrease in the period of revolution at a rate approximately given by

$$\frac{dT}{dt} = -\frac{6\,T\,\sigma_1\sigma_2}{\sigma_1 + 2\sigma_2}\,\frac{B^2}{d}, \quad (2)$$

where T is the period of revolution and the remaining symbols are the same as before[2]). With the above used values this formula gives for the rate of decrease of the period $\approx 10^{-2}$ sec/year.

It may be added, that in addition to the two effects described above the induction drag decreases the eccentricity of the orbit and may obviously cause additional perturbations of the Moon's motion.

Department of Physics, West Virginia University, Morgantown, West Virginia

OLEG JEFIMENKO

Eingegangen am 16. September 1958

[1]) JEFFREYS, H.: Dynamics of the Earth-Moon System. In: The Earth as a Planet, ed. G. P. Kuiper. Chicago: University of Chicago Press 1953. — [2]) JEFIMENKO, O.: Induction Drag of a Magnetic Sphere. To be published. — [3]) ALFVÉN, H.: Cosmical Electrodynamics. Oxford: At the Clarendon Press 1950.

Messung der elastischen Konstanten von CdS-Einkristallen

Der vollständige Satz der elastischen Konstanten von CdS-Einkristallen mit Wurtzitstruktur wurde bei Raumtemperatur aus statischen Torsions- und Biegungsmessungen sowie aus Kompressibilitätsmessungen bestimmt. Die untersuchten Proben waren dünne, rechteckförmige Kristallplättchen, deren Abmessungen etwa $10 \times 1{,}5 \times 0{,}07$ mm betrugen, sowie stäbchenförmige Kristalle mit einem annähernd regelmäßigen Sechseck als Querschnittsfläche. Die Dicke der Stäbchen betrug etwa 0,2 mm, ihre Länge etwa 10 mm. Die c-Achse lag bei den Kristallstäbchen parallel zur Stabachse, bei den Kristallplättchen senkrecht zur Längsrichtung, parallel zu einer schwach erkennbaren Riefelung.

Aus den Biegeversuchen ergeben sich nach bekannten Beziehungen unmittelbar die Elastizitätskoeffizienten s_{11} und s_{33}. Aus den Torsionsversuchen erhält man in beiden Fällen s_{44}[1]). Es wurden folgende Werte gemessen:

$$s_{11} = (2{,}22 \pm 0{,}06)\cdot 10^{-12}\ \mathrm{cm^2/dyn}$$
$$s_{33} = (2{,}19 \pm 0{,}08)\cdot 10^{-12}\ \mathrm{cm^2/dyn}$$
$$s_{44} = (7{,}0 \pm 0{,}4)\cdot 10^{-12}\ \mathrm{cm^2/dyn}\ ^{2}).$$

Aus den linearen Kompressibilitäten $\varkappa_\perp$ und $\varkappa_{||}$ ergeben sich die Aggregate[3])

$$\varkappa_\perp = s_{11} + s_{12} + s_{13} = (0{,}55 \pm 0{,}02)\cdot 10^{-12}\ \mathrm{cm^2/dyn}$$
$$\varkappa_{||} = 2\,s_{13} + s_{33} = (0{,}59 \pm 0{,}02)\cdot 10^{-12}\ \mathrm{cm^2/dyn}.$$

Hieraus lassen sich die restlichen Koeffizienten s_{12} und s_{13} berechnen:

$$s_{12} = -\,0{,}87\cdot 10^{-12}\ \mathrm{cm^2/dyn};$$
$$s_{13} = -\,0{,}80\cdot 10^{-12}\ \mathrm{cm^2/dyn}.$$

Die angegebenen Werte stellen Mittelwerte von Messungen an durchschnittlich sechs Kristallen dar.

Für die Elastizitätsmoduln ergeben sich folgende Werte:

c_{11}	c_{12}	c_{13}	c_{33}	c_{44}	[10^{11} dyn/cm²]
8,1	4,9	4,8	8,0	1,43	

Das Meßergebnis zeigt, daß sich CdS mit Wurtzitstruktur näherungsweise wie ein isotropes elastisches Medium verhält, was bei dem vorliegenden Achsenverhältnis von $c/a = 1{,}63$ auch zu erwarten war. Eine ausführliche Diskussion folgt in einer späteren Arbeit.

Frau Professor Dr. BOLL-DORNBERGER danke ich für die röntgenographische Bestimmung der Lage der c-Achsen, Herrn Dozent Dr. K.W. BÖER für zahlreiche wertvolle Ratschläge.

Deutsche Akademie der Wissenschaften zu Berlin, Laboratorium für die Physik des elektrischen Durchschlages im Institut für Strahlungsquellen, Berlin C 2

E. GUTSCHE

Eingegangen am 24. September 1958

[1]) Vgl. z.B. VOIGT, W.: Kristallphysik, S. 716ff. Leipzig u. Berlin: B.G. Teubner 1928. — [2]) Dieses Ergebnis wurde an Stäbchen erhalten. Die Torsionsmessungen an Plättchen ergaben $s_{44} = (7{,}2 \pm 0{,}6)\cdot 10^{-12}$ cm²/dyn. — [3]) Das Ergebnis der Kompressibilitätsmessungen wurde bereits mitgeteilt [GUTSCHE, E.: Naturwiss. **45**, 486 (1958)].

Beeinflussung der ausgeprägten Streckgrenze von weichem Stahl durch Sandstrahlen

Im Rahmen einer anderen Untersuchung[1]) wurden Zugversuche an dünnen, mit Sand bestrahlten Blechen aus unlegiertem Stahl durchgeführt. Dabei zeigte sich, daß die Ausbildung einer ausgeprägten Streckgrenze durch die Sandbestrahlung unterdrückt wird. Versuche mit 1, 3, 5 und 8 mm

dicken Blechen ließen einen Dickeneffekt erkennen. Bei 1 mm Blechdicke war die Streckgrenzenausbildung völlig unterdrückt, bei 3 mm Blechdicke war ein deutlicher Rückgang in der Ausbildung zu erkennen, während bei 5 und 8 mm Blechdicke kein Einfluß mehr festzustellen war (Fig. 1). Dieser Sandstrahleffekt ist unseres Wissens noch nicht publiziert worden.

Die Ursache für die Ausbildung einer ausgeprägten Streckgrenze wird heute in der Wechselwirkung zwischen Fremdatomwolken und Versetzungen gesehen, d.h. in der Lösung der Fremdatome von ihren zugeordneten Versetzungen[2]). Alle Faktoren, die diese Wechselbeziehungen stören können, können die Ausbildung einer ausgeprägten Streckgrenze behindern, so auch eine Kaltverformung. Beim

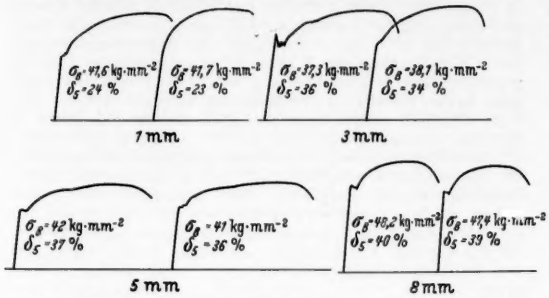


Fig. 1. Spannung–Dehnung–Kurven von weichem, unlegiertem Stahl vor (links) und nach (rechts) Bestrahlung mit Quarzsand bei verschiedenen Blechdicken

Sandstrahlen wird eine oberflächennahe Schicht des Werkstoffes kaltverformt. Aus dem gefundenen Dickeneinfluß läßt sich folgern, daß auch hier eine Kaltverformung eine Rolle spielt. Doch ist besonders auffällig, daß bei Blech von 1 und 3 mm Dicke anscheinend der gesamte Querschnitt beeinflußt wird, während sich die kaltverformte Zone sicher nur über einen geringen Bruchteil des Gesamtquerschnittes erstreckt. Weitere Versuche zur Klärung dieser Fragen werden noch durchgeführt.

Institut für Werkstoffkunde und Schweißtechnik der Universität, Rostock

HARALD SPINDLER*)

Eingegangen am 18. Juli 1958

*) Jetzt: Zentralinstitut für Kernphysik, Dresden-W.H.

[1]) Werkstoffe und Korrosion 9, 278 (1958). — [2]) HOUDREMONT, E.: Sonderstahlkunde, 3. Aufl., S. 196. 1956.

Fortlaufende Messung schwacher β-Strahler in Flüssigkeiten mit Szintillatorschlauch

Während die Messung von einzelnen Proben schwacher β-Strahler wie C^{14} und S^{35} nach Fällung als Bariumsalz oder in Gasform als Standardmethode geübt und erst in jüngster Zeit durch Verwendung flüssiger Szintillatoren abgelöst wird, sind uns abgesehen von[1]) keine Verfahren bekannt, sie in strömenden Flüssigkeiten kontinuierlich zu messen. Die zitierte Methode, die in Anlehnung an[2]) eine sehr dünne Flüssigkeitsschicht zwischen zwei Plastikszintillatorplatten (phosphoreszierende organische Substanz, in Plexiglas eingebettet) verwendet, um hinreichend viele Elektronen den Phosphor erreichen zu lassen, ist für visköse und zur Gerinnung neigende biologische Medien nicht geeignet. Wir ließen uns deshalb aus dem Plastikszintillatormaterial NE 102 Schläuche mit einer lichten Weite von 0,7 mm und einem Außendurchmesser von 1,5 mm herstellen, die wir im Wasserbad bei 80° C bifilar zu einer flachen Schnecke aufwickelten. Aus der dünnen Flüssigkeitssäule in diesem Schlauch erreichen auch Teilchen kleiner Energie die Wandung. Die sehr kleine Lichtintensität erfordert zur Zählung jedoch eine hohe Verstärkung. Zur Reduktion störender Rauschimpulse verwenden wir deshalb zwei Sekundärelektronenvervielfacher FS 9A in Koinzidenzschaltung. Die Schnecke wird mit den gegenüberstehenden Eintrittsöffnungen beider Röhren durch Silikonöl in optischen Kontakt gebracht.

Bei einer Photomultiplierspannung von 725 V und einer Eingangsempfindlichkeit des Verstärkers von 1 mV wurden in 0,3 ml (Fassungsvermögen der Schnecke) $= 3 \cdot 10^{-9}$ c einer an der Carboxylgruppe ^{14}C-markierten Benzoesäurelösung in Äthanol 220 imp/min abzüglich eines Nulleffekts von 26 imp/min gemessen. Das entspricht einer Ausbeute von etwa 3%.

Eine ^{35}S-Natriumthiosulfatlösung von $6{,}6 \cdot 10^{-8}$ c ergab bei einer Photomultiplierspannung von 850 V und obengenannter Eingangsempfindlichkeit 2417 imp/min abzüglich eines Nulleffekts von 440 imp/min entsprechend einer Ausbeute von etwa 1,3%. Bei Verwendung von Blut an Stelle ungefärbter Lösungen sinkt die Ausbeute auf $^1/_{10}$. Es wird versucht, mit einem prismatischen Lichtleiter eine Absorption der Phosphoreszenzstrahlung in der gefärbten Lösung zu umgehen. Man darf annehmen, daß sich die Ausbeute durch elektronische Maßnahmen noch steigern läßt.

Als Strahlungsmeßgerät fand ein FH 49 (Friesecke und Hoepfner) Verwendung, die Koinzidenzstufe stellte die Firma Dr. Stamm, Berlin, nach unseren Angaben her. Das Plastikszintillatormaterial NE 102 wurde von der Firma Nuclear Enterprise, Edinburgh, bezogen.

Hauptlaboratorium der Schering AG., Berlin-West

K.H. KIMBEL und J. WILLENBRINK

Eingegangen am 4. Oktober 1958

[1]) SCHRAM, E., u. R. LOMBAERT: Int. Conf. Radioisotopes in sc. res., Paris 1957. — [2]) BLÜH, O., u. F. TERENTIUK: Nucleonics 10, 49 (1952).

Behaviour of Monovalent Impurities Incorporated in Alkali Halides

Experimental results and theoretical discussions on the behaviour of divalent impurities in alkali halides are available[1–3]), but the simplest kind of impurity namely, an alkali or a halide ion, where the difference in ionic size is the major factor of importance, has not attracted much attention. Experimental studies here, on the behaviour of such impurities in alkali halides, have led to the observation of a new phenomenon. The trace impurities were found to evaporate from the matrix of the host lattice at temperatures considerably lower than the melting points of the impurity salts. It has been possible to establish this, hitherto unobserved effect, by the use of radioactive techniques.

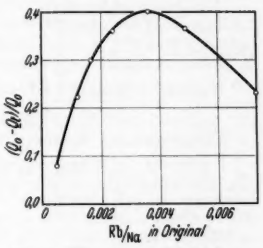


Fig. 1. The effect of initial concentration of RbCl in NaCl on its rate of evaporation. Temperature of heating: 550° C (1 hour). Q_0 and Q_f are initial and final concentrations of RbCl

It was observed that if RbCl or CsCl is deposited on one surface of a single crystal of NaCl or KCl and the coated crystal heated, the deposit evaporated rapidly at temperatures above 500° C. The impurities in a pure state do not evaporate to any appreciable extent at these temperatures. The evaporated salts could be collected rapidly on suitable collecting devices. In experiments for incorporating impurities, it was found possible to introduce trace amounts of RbCl or CsCl in KCl and NaCl, by techniques of mixed melting and zone levelling. Evaporation rates of the impurities at various initial concentrations were determined. The impurities being radioactive (Rb^{86} and Cs^{137}), the percentage loss by evaporation could be found by specific activity determinations of the crystal specimens before and after heating by appropriate counting techniques. In every case, the rate of evaporation was found to rise exponentially with temperature. Accurate weighing of the crystals, before and after heating, showed no loss in weight from which it could be concluded that the evaporation of the trace constituents is not accompanied by the simultaneous evaporation of the host crystals to any extent. This was also confirmed by spiking the host with Na^{22}.

In all systems, the initial impurity concentration was found to have major effects on the rate of its evaporation. In each system, there is an optimum concentration where evaporation is most rapid. The general trend of behaviour can be seen from fig. 1 where the evaporation of RbCl from NaCl at 550° C is plotted as a function of concentration. The size of the impurity ion was found to have a marked effect on the rate of its evaporation. CsCl was found to evaporate most rapidly from NaCl and to a lesser extent from KCl, while the evaporation of RbCl from NaCl though more rapid than that of CsCl from KCl was less than that of CsCl from NaCl. The

evaporation rate of RbCl from KCl was very low. Further, it was found that the concentration for maximum evaporation decreases with increasing disparity of the ion sizes of the impurity and the host ions (Table 1).

From the evaporation rates, the values of the diffusion coefficients of the impurities could be calculated. The values at the optimum concentrations in the various systems are presented in table 1.

The observed effects due to the size and the concentration of the impurity ions on its rate of evaporation can be explained in terms of overlap forces[4]), JOHNSON's hypothesis[5]) of preferential diffusion of impurities and the concepts of quantum rate theory. The factors that have to be taken into account to explain the observed behaviour of cations would also hold for monovalent anionic impurities of larger size and hence it could be predicted that the behaviour of such impurities would have similar features. This has been confirmed by studying the behaviour of the iodide ion in KCl. It could, therefore, be concluded that the migration to the surface and subsequent rapid evaporation of impurities, differing from solvent ions in size alone is a property of both cations and anions.

Table 1. *Outward diffusion coefficients (D) of the impurity ions at their optimum concentrations*

System	Optimum ratio*)	$D \cdot 10^6$ (in °C)					
		500	550	600	650	680	700
CsCl in NaCl . .	0·000176	116·0	270·0	660·0	—	—	—
RbCl in NaCl. .	0·00368	45·8	124·0	328·0	—	—	—
CsCl in KCl . .	0·00399	—	4·7	14·3	—	—	—
RbCl in KCl . .	0·0123	—	—	3·4	9·1	14·2	18·7

*) Optimum ratio of impurity ion to host ion.

The details of the experimental techniques and the various findings along with the theoretical discussions will be published later. The authors are thankful to Professor G. I. FINCH, F. R. S., for the interest he has shown in this work.

National Chemical Laboratory, Poona 8, India

A. K. DAS GUPTA and K. P. SINHA

Eingegangen am 22. August 1958

[1]) SEITZ, F.: Rev. Mod. Physics **26**, 7 (1954). — [2]) STASIW, O., and J. TELTOW: Ann. Physik **1**, 261 (1947). — [3]) LIDIARD, A. B.: Phil. Mag. **46**, 815, 1218 (1955). — [4]) BORN, M., and J. E. MAYER: Z. Physik **75**, 1 (1932). — [5]) JOHNSON, R. P.: Physic. Rev. **56**, 814 (1939).

Einführung von Brom in Nucleinsäuren

LETTRÉ hat 1954 gezeigt[1]), daß die Mitochondrienfraktion von Asciteszellen, die mit N-Lost behandelt waren, eine cytotoxische Wirkung auf den Mäuseascites-Tumor besitzt. Es werden daher hier Untersuchungen darüber durchgeführt, welche Umwandlungen Zellorganellen oder ihre Komponenten unter der Einwirkung chemischer, insbesondere cytotoxischer Verbindungen erleiden [siehe z. B.[2])] und welche Wirkungen diese Umwandlungsprodukte gegen Tumoren haben. Im Verfolg dieser Fragestellung versuchen wir, chemisch veränderte Ribo- und Desoxyribonucleinsäuren (RNS bzw. DNS) herzustellen.

Die in-vivo-Befunde von WEYGAND[3]) [s. a.[4]) und [5])] zeigen die leichte Ersetzbarkeit von Thymin durch Bromuracil in der DNS von Bakterien und Bakteriophagen, die — infolge der isosteren Vertretbarkeit der CH_3-Gruppe und des Broms — in einigen Fällen ohne ersichtliche Schädigung der Kulturen bis zu 75% betragen kann[3]). Im Walker-Tumor der Ratte konnte ich bei Zufuhr von Bromuracil keinen Einbau in die DNS feststellen, der über der analytischen Nachweisbarkeitsgrenze lag.

Daher wurde die direkte Bromierung von Nucleinsäuren in Angriff genommen. Es wurden Handelspräparate von RNS und DNS sowie eine hochmolekulare DNS aus Thymus verwendet. Die Umsetzungen mit freiem Brom wurden in siedendem Tetrachlorkohlenstoff [analog den von WEYGAND[3]) angegebenen Bedingungen der Uracilbromierung], in Formamid, mit Bromdampf, in Wasser bei 0° und in 50%igem Glycerin bei −20° durchgeführt. Die Reaktionsprodukte wurden in Bicarbonat gelöst, mit verdünnter Salpetersäure bei p_H 1 in der Kälte gefällt, mit Alkohol gewaschen und diese Operation dreimal wiederholt. Sie zeigten gegenüber dem Ausgangsmaterial Unterschiede der Beweglichkeiten bei der Papierelektrophorese in Boratpuffer vom p_H 9 oder in Formamid/Ameisensäure (9:1). Ihre UV-Spektren zeigten keine Veränderung, während die IR-Spektren kleine Unterschiede besaßen. Papierchromatographisch ließen sich nach Hydrolyse bromierter RNS mit Perchlorsäure Bromuracil und einige nicht identifizierte fluoreszenzlöschende Substanzen nachweisen. Analytisch wurden z. B. 2,4 und 3,2% Brom gefunden, gegenüber 0,032% Halogen (als Brom berechnet) in einem analog aufgearbeiteten Ausgangsmaterial. Bei alleiniger Bromierung des Uracils würden danach 42 bzw. 59% dieses Pyrimidins in der RNS umgesetzt sein. Eine Reaktion mit den Pentosen der Nucleinsäuren ist unwahrscheinlich, denn LEVENE und LA FORGE[6]) führten in wäßriger Lösung Brom in Uridin und Cytidin ein, ohne eine Reaktion mit der Ribose zu bekommen. Hochmolekulare DNS aus Thymus ergab nach Bromierung bei −20° und Fällen des Reaktionsproduktes keine Verringerung der Viskosität seiner wäßrigen Lösung gegenüber dem Ausgangsmaterial, so daß der Polymerisationsgrad keine wesentliche Veränderung erfahren dürfte. Im Falle der DNS wird Cytosin reagieren, das als freie Base in wäßriger Lösung ähnlich leicht mit Brom reagiert wie Uracil.

Brom läßt sich also in Pyrimidine einführen, die innerhalb der Nucleinsäuren gebunden sind. Die bromierte RNS steht chemisch zwischen natürlicher RNS und DNS: durch den Gehalt an Bromuracil als Vertreter des Thymins ähnelt sie der DNS, durch die Kohlenhydratkomponente unterscheidet sie sich von ihr. Die erhaltenen Produkte werden weiter auf ihre chemischen und physiologischen Eigenschaften untersucht.

Herrn Professor LETTRÉ danke ich für die Anregung und Förderung der Arbeiten.

Institut für Experimentelle Krebsforschung der Universität, Heidelberg

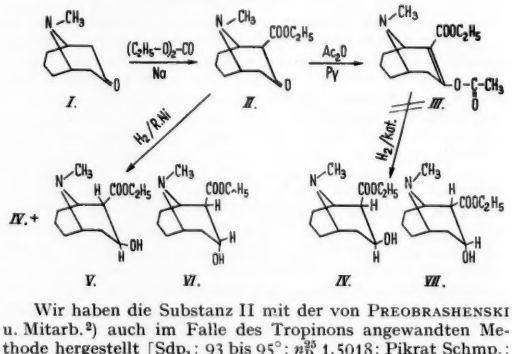
WALTER KANNGIESSER

Eingegangen am 3. Oktober 1958

[1]) LETTRÉ, H.: Naturwiss. **41**, 188 (1954). — [2]) SCHOLTISSEK, CH.: Z. Krebsforsch. **61**, 390, 578 (1957); **62**, 109 (1957). — [3]) WEYGAND, F. A. WACKER u. H. GRISEBACH: Z. Naturforsch. **6b**, 177 (1951). — WACKER, A., A. TREBST, P. JACKERTS u. F. WEYGAND: Z. Naturforsch. **9b**, 616 (1954). — WEYGAND, F., A. WACKER u. K. M. PATIL: Chem. Ber. **89**, 475 (1956). — [4]) ZAMENHOF, S., u. G. GRIBOFF: Nature [London] **174**, 305 (1954). — [5]) DUNN, D. B., u. J. D. SMITH: Nature [London] **174**, 306 (1954). — [6]) LEVENE, P. A., u. F. B. LA FORGE: Ber. dtsch. chem. Ges. **45**, 608 (1912).

Darstellung von Ekgonin-Ester-Analogen

Die Zusammenhänge zwischen Raumstruktur und pharmakologischer Wirkung sind neuerdings von FINDLAY[1]) bei den Kokain-Epimeren untersucht worden. Im Interesse einer weitgehenden Untersuchung dieses Problems haben wir uns die Herstellung der vier epimeren 2-Carbomethoxy-3-benzoyloxy-Granatanole zum Ziel gesetzt.



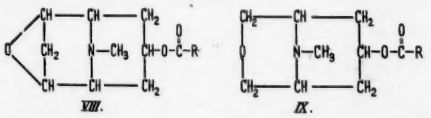
Wir haben die Substanz II mit der von PREOBRASHENSKI u. Mitarb.[2]) auch im Falle des Tropinons angewandten Methode hergestellt [Sdp_1: 93 bis 95°; n_D^{23} 1,5018; Pikrat Schmp.: 194 bis 195°; Methojodid Schmp.: 268 bis 270° (Zrstz.)]. Die katalytische Hydrierung oder eine Reduktion mit Natrium-Amalgan des Tropinon-2-carbonsäureesters führt zu einer Mischung der stereoisomeren β-Oxy-säureester[1]),[3–5]). Wir haben das Enolacetat (III) bereitet (Pikrat Schmp. 173 bis 175°) in der Hoffnung, durch die Reduktion dieses Stoffes zwei Schlüsselverbindungen (IV und VII) zu erhalten. Trotz zahlreicher Abänderungen der Versuchsbedingungen ist die katalytische Hydrierung nicht gelungen, wie es auch WILLSTÄTTER[4]) beim Enolbenzoat des Tropinoncarbonsäureesters

fand. Die katalytische Reduktion des Ketoesters (II) in Gegenwart von Raney-Nickel bei 100° C und 100 Atm liefert ein Gemisch der stereoisomeren 2-Carbo-methoxy-3-oxygranatane. Das nach einer Vakuumdestillation gewonnene Öl zeigt keine $FeCl_3$-Reaktion.

(Sdp_4: 163 bis 175°; *Analyse:* Ber. C 63,40; H 9,31; N 6,3. Gef. C 63,80; H 9,8; N 6,36).

Nach der Destillation blieb ein Kristallbrei zurück, der den Verbindungen (VI) und (VII) ähnelt. Die Trennung der Stereoisomeren ist im Gange.

Es laufen auch Versuche zur Darstellung und zur Klärung der pharmakologischen Wirkung des einen Trimethylenoxyd-Ring enthaltenden Esters (VIII).



VIII. IX.

Die Herstellung dieser wahrscheinlich scopolaminartig wirkenden Substanz wird auch durch die Tatsache gerechtfertigt, daß der Oxagranatanolester (IX) über eine dem Scopolamineffekt ähnliche Wirkung verfügt[6]). Es befindet sich ein Oxazidin (Morpholin)-System sowohl in den Verbindungen (VIII) und (IX) als auch im Scopolamin.

Organisch-Chemisches Institut der Universität, Szeged, Ungarn
I. Weisz, M. Halmos und B. Matkovics

Eingegangen am 25. August 1958

[1]) Findlay, S. P.: J. Org. Chemistry **21**, 74 (1956). — [2]) Preobrashenski, N. A., M. N. Schtschukina u. R. A. Lapina: Chem. Ber. **69**, 1615 (1936). — [3]) Willstätter, R., u. A. Bode: Liebigs Ann. Chem. **326**, 42 (1903). — [4]) Willstätter, R., u. M. Bonner: Liebigs Ann. Chem. **422**, 15 (1921). — [5]) Willstätter, R., O. Wolfes u. H. Mäder: Liebigs Ann. Chem. **423**, 111 (1923). — [6]) Jerchel, D., u. H. Weidman: Liebigs Ann. Chem. **607**, 126 (1957).

Chromatographische Trennung von Chlorophyll-a und -b an Eisenoxyd

Die chromatographische Trennung von Chlorophyll-a und -b ist nicht nur schwierig, weil die Molekeln sich kaum voneinander unterscheiden — Chlorophyll-a hat in 3-Stellung eine Methyl-, Chlorophyll-b eine Formylgruppe —, sondern auch

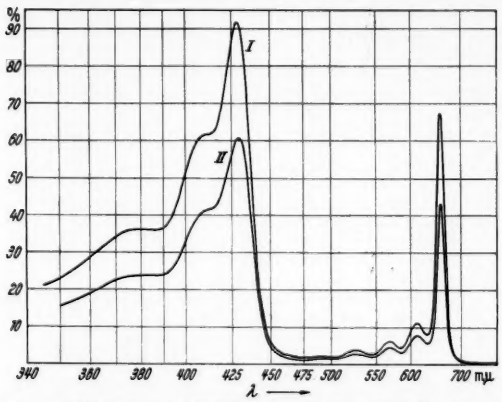


Fig. 1. Spektren von Chlorophyll-a vor (I) und nach (II) der Adsorption an Eisenoxyd. (Aufnahme Beckman DK 2)

wegen ihrer leichten Zersetzlichkeit an den verschiedensten Adsorbentien, wie z. B. Aluminiumoxyd, Fasertonerde, Calciumcarbonat, Natriumsulfat, Stärke u. a. Winterstein und Stein[1]) gelang die Trennung an Puderzucker; sie fanden eine Zone, die reines Chlorophyll-a enthielt, eine Mischzone von a und b und eine dritte Zone von Chlorophyll-b mit etwa 10% Chlorophyll-a. Chlorophyll-b konnte nur nach Wiederdolung des Vorganges gewonnen werden. Die Zonen wurden nicht eluiert, sondern hintereinander aus dem Adsorptionsrohr gehoben und dann extrahiert. Von Nachteil ist bei diesem Verfahren die Hygroskopizität des Puderzuckers und seine Neigung, Klumpen zu bilden.

Wir haben kürzlich[2]) über die Verwendung von Eisenoxyden für chromatographische Trennungen berichtet und dabei festgestellt, daß der Aktivitätsbereich und die Selektivität bei Eisenoxyd weit größer als bei Aluminiumoxyd sind. Inzwischen haben weitere Versuche mit heißen Lösungsmitteln[3]) die mannigfachen Vorteile von Eisenoxyd bei der „Heißchromatographie"[4]) gezeigt, wobei wir in einem Arbeitsgang Anthracen und Pyren in spektralreine Fraktionen trennen konnten. Es lag daher nahe, die Trennung von Chlorophyll-a und -b mit Eisenoxyd zu versuchen. Es ergab sich, daß Eisenoxyd auch in diesem Falle allen bisher verwendeten Adsorbentien weit überlegen war.

Zunächst wurde das Verhalten der reinen Komponenten a und b an einer Eisenoxydsäule untersucht und gefunden, daß sie durch Adsorption und Elution nicht verändert werden. In Fig. 1 sind beispielsweise die Spektren von Chlorophyll-a vor (I) und nach (II) der Chromatographie in Benzol-Äther (1:1) zu finden. Alle Banden sind nach der Elution im gleichen Intensitätsverhältnis und bei denselben Wellenlängen wie vorher vorhanden. Die Chlorophylle können tagelang an der Säule adsorbiert bleiben und erst dann eluiert werden, ohne daß eine Veränderung eintritt. Diese Indifferenz gegenüber beiden

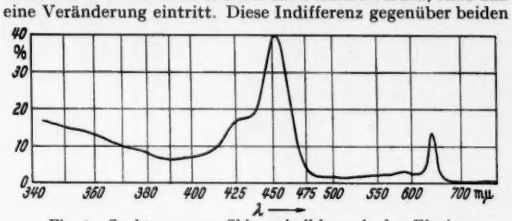


Fig. 2. Spektrum von Chlorophyll-b nach der Elution

Komponenten gilt sowohl für das amorphe Gel[4]) als auch für das bei höheren Temperaturen hergestellte α-Fe_2O_3 (Hämatit). Im Gegensatz dazu wird Chlorophyll an Aluminiumoxyd stets verändert, selbst an einem Oxyd, das vorher 2 Std auf 1100° C erhitzt wurde.

Für die Trennung der beiden Komponenten wurde das Ausgangsmaterial Eisen(III)-hydroxyd 29 Std bei 50° C getrocknet und anschließend 2 Std auf 1000° C erhitzt. Die Säule war 20 cm lang bei einem Durchmesser von 1 cm. Die Mischung von Chlorophyll-a und -b in Benzin-Benzol (7:1) kam nun auf die Säule, anschließend wurde mit Benzol eluiert. Mit der Lösungsmittelfront wanderte eine gefärbte Fraktion, deren Spektrum reines Chlorophyll-a zeigte. Das darauf folgende Eluat war nicht farblos, sondern bestand aus einer Mischung der beiden Chlorophylle; die letzten Fraktionen waren reines Chlorophyll-b (Fig. 2), das sich von der Säule relativ schlecht mit Benzol ablösen ließ und daher als stark verdünnte Lösung anfiel.

Herrn Professor Dr. A. Stoll, Basel, danken wir bestens für die Überlassung von reinem Chlorophyll-a und -b.

Der Firma Knapsack-Griesheim AG, insbesondere Herrn Direktor Dr. Dr. Ritter, sowie der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir für Unterstützung.

Göttingen, Anorganisch-Chemisches Institut der Universität
Oskar Glemser und Gerhard Rieck

Eingegangen am 23. August 1958

[1]) Winterstein, A., u. G. Stein: Hoppe Seyler's Z. physiol. Chem. **220**, 263 (1933). — [2]) Glemser, O., u. G. Rieck: Angew. Chem. **69**, 91 (1957). — [3]) Glemser, O., G. Rieck u. H. Lackner: Chem. Ber. (im Druck). — [4]) Meier, R., u. J. Fletschinger: Angew. Chem. **68**, 373 (1956). — [5]) Unsere Untersuchungen zeigen [O. Glemser u. G. Rieck, Z. anorg. allg. Chem. (im Druck); O. Glemser, C. V. D. Stolpe u. D. I. Kroon, Nature, London (im Druck)], daß es sich bei diesem Produkt um Eisen(III)-hydroxyd handelt, das aber nicht der Formel $Fe(OH)_3$ entspricht, sondern als „Kondensiertes Eisen(III)-hydroxyd" bezeichnet wird.

Diagonales Kreuzungsverfahren der Papierelektrophorese zum Nachweis der Enzym-Substrat-Verbindungen

Grassmann und Hübner[1]) haben ihr kontinuierliches Verfahren der Papierelektrophorese entwickelt und weisen lockere Additionsverbindungen mit ihm nach. Ihr Verfahren beruht im Prinzip darauf, daß die auf Additionsverbindungen zu untersuchenden Substanzen auf dem Wanderungswege einander durchschneiden. Ein Additionskomplex bewegt sich so lange in mittlerer Richtung, bis er sich wieder in die Anfangssubstanzen aufspaltet. Der zugrunde liegende Gedanke ist ausgezeichnet, aber seine Durchführung recht umständlich; das kontinuierliche Verfahren der Elektrophorese war eigent-

lich zur Trennung verschiedener, nicht miteinander reagierender Substanzen ausgearbeitet worden.

Wir bringen die zu untersuchenden Stoffe auf dem Papier quer gegeneinander auf. Fig. 1 zeigt das Verhalten von Methylenblau (MB) und Bromphenolblau (BPB). Mit dem Verlauf der Elektrophorese wandern die Stoffe, wie die beiden Linien *M* und *B* zeigen. Wo sie sich treffen, werden die Linien

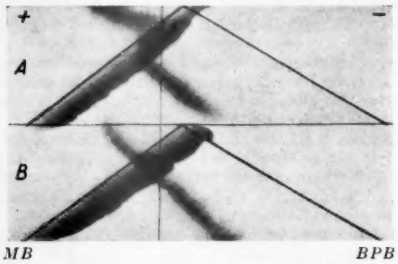


Fig. 1 A u. B. Kreuzung von Methylenblau und Bromphenolblau. 0,3 %ige Farbstofflösung 0,005 ml/cm. Elektrophorese: 260 min, 3,5 mA, 180 V mit der Veronalpuffer von p_H 8,6, und Ionenstärke 0,05. A Methylenblau (*MB*) und Bromphenolblau (*BPB*). B *MB* und *BPB* mit Rinderserum

der Stoffe als Ganzes verschoben. Die relative Stellung oder der Winkel zwischen ihnen wird dabei fast gar nicht verändert. Auch wenn sie elektrophoretisch verschieden rasch wandern, werden sie sich irgendwo zuletzt kreuzen. Das Endergebnis zeigt dasselbe wie das von GRASSMANN und HÜBNER. Man kann natürlich die Stoffe von Anfang an getrennt oder schon gekreuzt aufbringen.

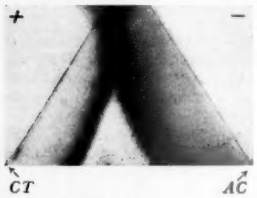


Fig. 2. Nachweis der Enzym-Substrat-Verbindung von Chymotrypsin und Azocasein. Je 0,002 ml/cm von 10 %iger Azocasein-Lösung und 2 %iger Chymotrypsin-Lösung wurden auf die Linien *AC* bzw. *CT* aufgebracht. Nach der Elektrophorese von 2 Std, mit einem Strom von 2 mA und 150 V bei 1° C, in Veronalpuffer von p_H 8,6 und Ionenstärke 0,05 mit Bromphenolblau gefärbt. Man beachte die verdickte Zone der Vereinigung beider Stoffe

In Fig. 1 sieht man an (*A*) die Bildung eines lockeren, im weiteren Verlauf wieder dissoziierenden Komplexes der beiden Farbstoffe. Fig. 1 (*B*) zeigt ihr Verhalten, wenn das BPB mit Blutserum versetzt wird und also mit dem Serumalbumin gebunden wandert. Jetzt addieren die beiden Farbstoffe nicht mehr, da das BPB mit Serumalbumin fester verbunden bleibt.

Mit dem hier vorgeschlagenen, praktisch leicht durchführbaren Verfahren wird die elektrophoretische Methode zum Nachweis lockerer Additionsverbindungen wesentlich vereinfacht. Außerdem läßt sich eine Reaktion zweier Stoffe miteinander, die in gleiche Richtung wandern, beobachten, was mit dem Verfahren von GRASSMANN und HÜBNER äußerst schwierig ist. So können die dort als nur möglich vorgesehenen Nachweise von Enzym-Substrat-Verbindungen und der Antigen-Antikörper-Reaktionen auf dem Papier hier leicht geführt werden. Fig. 2 zeigt die Bildung der Enzym-Substrat-Verbindung von Chymotrypsin und Azocasein. Man kann quasi den Komplex, der durch die Vereinigung beider Stoffe entsteht, sehen.

Die zweidimensionale Papierelektrophorese[2]) wird zur Zeit wenig verwendet, weil mit ihr eine stoffliche Trennung weder wesentlich zu verbessern noch zu vereinfachen wäre. Aber das hier vorgeschlagene zweidimensionale Verfahren bietet augenscheinlich den Vorteil, daß Stoffe nicht nur elektrophoretisch getrennt, sondern auch zweidimensional bewegt werden und daß man sieht, wenn sie dabei miteinander reagieren. — Eingehender wird darüber an anderer Stelle berichtet werden.

Medizinisch-Chemisches Institut, Yamaguchi Medizinische Hochschule, Ube, Japan

S. NAKAMURA und T. UETA

Eingegangen am 1. September 1958

[1]) GRASSMANN, W., u. L. HÜBNER: Naturwiss. **40**, 272 (1953). — [2]) DURRUM, E. L.: A manual of paper chromatography and paper electrophoresis (ed. R. J. BLOCK, E. L. DURRUM and G. ZWEIG), S. 376. New York: Academic Press 1955.

Die Trennung zyklischer Nucleotide mittels Papierchromatographie

Es besteht die Möglichkeit, Adenosin-2′-3′-zyklophosphat, Cytidin-2′-3′-zyklophosphat und Uridin-2′-3′-zyklophosphat auf Papier voneinander zu trennen mittels einer schwach alkalischen Lösung aus 9,6 g $(NH_4)_2CO_3$, 250 ml Wasser, 750 ml Isopropanol. Das $(NH_4)_2CO_3$ wird zuerst in Wasser gelöst und danach das Isopropanol der Lösung zugesetzt; die sich ergebende Mischung ist ungefähr 0,1 molar in bezug auf $(NH_4)_2CO_3$. Whatman-Papier n° 1 oder n° 3 kann mit gleichem Erfolg verwendet werden. Mengen von 10 bis 20 γ von jedem Nucleotid, je nach dem verwendeten Papier, sind ausreichend zur Bestimmung. Die Folge der Laufgeschwindigkeiten (nach abnehmenden R_F-Werten) ist: Adenosin-2′-3′-zyklophosphat, Uridin-2′-3′-zyklophosphat und Cytidin-2′-3′-zyklophosphat. Da jedoch die R_F-Werte ziemlich klein sind und nur wenig auseinander liegen, muß man die Lösung vom Bogen tropfen lassen; es müssen daher Referenzsubstanzen verwendet werden. Eine geeignete Laufzeit ist 60 Std. Photographische Kontaktaufnahmen werden im UV-Licht vorgenommen. Obwohl die Methode zur Identifizierung geringer Mengen der drei zyklischen Nucleotide sehr geeignet ist, wird ihre Verwendbarkeit für quantitative Bestimmungen dadurch beeinträchtigt, daß wahrscheinlich ein Bruchteil der zyklischen Ester in die entsprechenden Nucleotide hydrolysiert wird. Tatsächlich wurden auf allen mittels dieser Methode erhaltenen Chromatogrammen auch kleinere Flecken mit geringeren R_F-Werten gefunden, die auf die entsprechende Nucleotide zurückzuführen waren. Allem Anschein nach rühren sie wenigstens teilweise von einer Hydrolyse während der Chromatographie her.

Wir danken Professor Dr. L. VANDENDRIESSCHE ergebenst für sein freundliches Interesse an dieser Arbeit.

Laboratorium voor Fysiologische Scheikunde, Rijksuniversiteit, Gent, Belgien

J. STOCKX

Eingegangen am 30. August 1958

Die Verwendung von Triäthylenglykol als stationäre Phase bei der papierchromatographischen Trennung der 17-Ketosteroide

Für die papierchromatographische Trennung der 17-Ketosteroide (17-KS) haben sich insbesondere die von ZAFFARONI angegebenen Systeme bewährt, bei welchen vorzugsweise Propylenglykol und Formamid als stationäre Phase angewandt werden. Ferner wurden auch Dimethylformamid, Äthylenglykol, Phenylcellosolve, Cellosolve und 1,3-Butandiol vorgeschlagen.

Für die Trennung insbesondere der weniger polaren 17-KS aus dem Harn bewährte sich bei uns auch Triäthylenglykol als stationäre und Petroläther als mobile Phase. Das Whatmanpapier Nr. 1 wird nach dem Auftragen der Proben oder des Harnextraktes der 17-KS mit einer 30 %igen Triäthylenglykollösung in Methanol imprägniert, zwischen Filterpapier gelöscht und nach 20 min in eine mit Dämpfen der mobilen Phase gesättigten Kammer gebracht. Das Chromatogramm wird dann jeweils 2 bis 3 Std mit Petroläther in absteigender Anordnung entwickelt. Nach dieser Zeit beträgt die Laufstrecke der Lösungsmittelfront 30 bis 35 cm. Die Lokalisierung der 17-KS erfolgt in folgender Weise: man zieht die Streifen durch eine 2 %ige m-Dinitrobenzenlösung in Äthanol und eine 15 %ige Kaliumhydroxydmethanollösung, die unmittelbar vor dem Gebrauch gemischt werden. Die Flecken entwickeln sich in einem Trockenschrank bei 80 bis 90°.

Bei der Identifizierung zeigt das Zimmermansche Reagenz in Anwesenheit von Triäthylenglykol eine bemerkenswerte Sensibilität. Die Sensibilitätssteigerung bei der Identifizierung der 17-KS mit der Hilfe von m-Dinitrobenzen, die schon bei der Verwendung von Propylenglykol bemerkt wurde, ist bei Triäthylenglykol viel markanter. Wenn das Chromatogramm mit einer 30 %igen Triäthylenglykollösung imprägniert wird, kann die Bestimmung von 0,1 μg Dehydroepiandrosteron zufriedenstellend erfolgen.

Die Beladungskapazität des chromatographischen Papiers, bei der noch eine befriedigende Auftrennung erfolgt und runde und ovale Flecken gebildet werden, beträgt je nach dem Charakter der 17-KS 0,3 bis 0,5 mg.

Das System Petroläther/Triäthylenglykol eignet sich insbesondere für die Auftrennung von Dehydroepiandrosteron, Epiandrosteron und Androsteron. Die R_F-Werte einiger Ketosteroide in diesem System sind folgende:

Äthiocholan-3α-ol-11,17-dion: 0,04; 5-Androsten-3β-ol-17-on (Dehydroepiandrosteron): 0,22; Androstan-3β-ol-17-on

(Epiandrosteron): 0,31; Äthiocholan-3α-ol-17-on (Ätiocholanolon): 0,32; Androstan-3α-ol-17-on (Androsteron): 0,44; 3,5-Cycloandrostan-6β-01-17-on (i-Androstanolon): 0,63; 5-Androstan-3β-chloro-17-on: 0,95; Kortisonacetat: 0,01; Östron: 0,03; Adrenosteron: 0,11; Testosteron: 0,12; Methyltestosteron: 0,26; Desoxykortikosteronacetat: 0,55; Progesteron: 0,82; Pregnan-3,20-dion: 0,90; Testosteronpropionat: 0,93; Cholesten-3-on: 0,97; Koprostan-3-on: 0,98.

Forschungsinstitut für die Endokrinologie, Prag 2, Tschechoslovakei

L. STÁRKA und J. ŽIVNÝ

Eingegangen am 15. September 1958

Ein neues Nachweisreagenz auf Phenole für die Papierchromatographie

Im Verlaufe unserer papierchromatographischen Untersuchungen der in pflanzlichen Extrakten enthaltenen Flavone und Gerbstoffe fanden wir ein Sprühreagenz, das spezifisch für *phenolische OH-Gruppen* ist. Das Reagenz zeigt im Gegensatz zu den in der Literatur[1],[2]) für Phenole angegebenen Reagenzien sehr klare, beständige Flecken, die für die einzelnen Substanzen charakteristische Färbungen von guter Beständigkeit liefern. Die Nachweisgrenze liegt bei 10 bis 15 γ.

Zur Durchführung der Methode wird das getrocknete Papierchromatogramm mit wäßriger gesättigter *Ammoniumvanadatlösung* besprüht, die als Reagenz für Phenole bereits beschrieben ist[1]). Hierbei ergeben sich schwach gelbe bis ockerfarbene Flecken, die von der gelblichen Ammoniumvanadatfärbung zum Teil überdeckt werden. Anschließend besprüht man die noch feuchten Papierchromatogramme mit einer alkoholischen, phosphorsauren *p-Anisidin-Lösung* (0,5 g p-Anisidin werden in 2 ml ortho-Phosphorsäure gelöst; dann wird mit absolutem Alkohol auf 100 ml aufgefüllt und vom ausgefallenen Phosphat abfiltriert). Gleich nach diesem zweiten Besprühen erscheinen die orange-gelben Flecken auf einem tiefroten Hintergrund. Beim Trocknen der Chromatogramme verblaßt der rote Anisidin-Vanadat-Komplex, und die Flecke erscheinen in der für sie charakteristischen Farbe auf einem schwach-rosa Hintergrund. Das Zerstören der roten Farbkomplexe wird durch Trocknen im Trockenschrank bei 80° C beschleunigt.

Folgende Substanzen wurden mit Hilfe der beschriebenen Methode von uns auf Papierchromatogrammen nachgewiesen; die Farbe der Flecken wird in Klammern angegeben: Quercetin (gelb), Quercitrin (braun), Kaffeesäure (rot), Chlorogensäure (rosa), Ferulasäure (grau-grün), d-Catechin (grau-braun) und Phloroglucin (blau-grün).

Über die Anwendung des Nachweises zur Identifizierung weiterer phenolischer Substanzen wird von uns später noch berichtet werden.

Experimentell-therapeutische Abteilung — Biochemisches Labor — der Chemisch-pharmazeutischen Fabrik Schaper & Brümmer, Salzgitter-Ringelheim

FERDINAND KLINKHAMMER

Eingegangen am 7. Oktober 1958

[1]) CRAMER, F.: Papierchromatographie, 4. Aufl. Weinheim/Bergstraße: Verlag Chemie 1958. — [2]) LINSKENS, H. F.: Papierchromatographie in der Botanik. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1955.

Oszillopolarographie der Steroide

Aus unserem Institut wurden bereits mehrere Arbeiten über die Oszillographie wasserlöslicher organischer Verbindungen veröffentlicht[1-3]). Eine Methode des Verfassers zur Oszillopolarographie der Steroide[4]) ermöglicht das Erfassen von Veränderungen, welche sich auf der Quecksilberelektrode in Anwesenheit der meisten organischen Verbindungen beim Stromdurchgang abspielen.

Es wird im Isopropanol-HCl-Medium mit der Hg-Tropf- und strömenden Elektrode, die durch den Wechselstrom polarisiert ist, polarographiert. Auf dem Oszillogramm, das die zeitliche Änderung der Spannung $dV/dt = f(V)$ registriert, beobachtet man die Einschnitte und Deformationen, die in der Grundlösung fehlen. Auf Grund dieser typischen Unterschiede wird nicht nur die Quantität des Steroides bestimmt, sondern können auch Schlüsse auf die Struktur der Molekeln gezogen werden.

Cholesterol, seine Ester, Testosteron, Progesteron und Cortison sowie deren Derivate kann man auf der tropfenden Elektrode in Konzentrationen von 10^{-4} M in 1 ml an bestimmen, Oestron, Oestradiol, Equilin und Equilenin von $5 \cdot 10^{-4}$ M an. Bei den Estern des Cholesterols vom Formiat bis zum Stearat steigt das kathodische Maximum mit der Länge der Säurekette. Alle Steroide, die in Stellung 3C eine Hydroxyl- oder eine Estergruppe besitzen, zeigen auf der strömenden Hg-Elektrode ein zweigipfeliges kathodisches Bild, und alle Steroide, die eine Keto- oder Ketalgruppe besitzen, zeigen dreigipfelige Oszillogramme (Fig. 1).

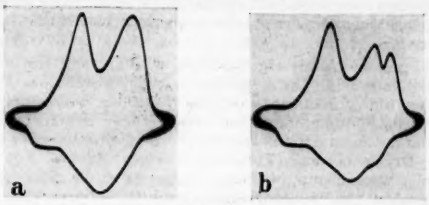


Fig. 1 a u. b. Strömende Hg-Elektrode. a Zweigipfliges Oszillogramm: Methylandrostendiol. b Dreigipfliges Oszillogramm: Methyltestosteron. (Beide $5 \cdot 10^{-4}$ m)

Dort, wo bei Steroiden der A-Ring voll ungesättigt ist und wo eventuell im B-Ring Doppelbindungen vorkommen, ist das Oszillogramm in allen Teilen kleiner im Vergleich zum Isopropanol. Die einzelnen Steroide unterscheiden sich bei der Tropfelektrode in Form und Höhe der Deformationen im linken Teil des Oszillogramms (Fig. 2). Höhere bis sehr hohe

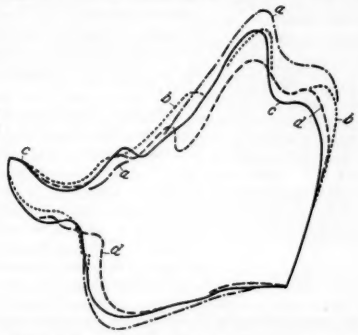


Fig. 2. Hg-Tropfelektrode. *a* 0,9 ml Isopropanol + 0,1 ml HCl (37%); *b* Oestron; *c* Equilin; *d* Equilenin. (Alle 10^{-3} m)

Oszillogramme sind für den hydrierten A- und B-Ring typisch, weiter für die Ketogruppe in Stellung 3C und bei jeder Substitution in Stellung 17C. Auf den Oszillogrammen sind noch weitere Merkmale erkennbar, welche eine gegenseitige Unterscheidung der Steroide erlauben.

Bisher wurden nur einzelne und reine Stoffe bestimmt. Bei Verwendung anderer als Hg-Elektroden werden vielleicht weitere Unterscheidungsmerkmale hervortreten. Ebenso wird die Erforschung von Steroidgemischen uns als Grundlage zur Bestimmung von Steroiden aus körperlichen Flüssigkeiten Unterlagen bieten.

Ich bin gerne bereit, aus eingesandten Mustern reiner Steroide Oszillogramme zu verfertigen.

Biochemisches Institut der Naturwissenschaftlichen Fakultät der Masaryk-Universität in Brno, Tschechoslowakei

VLADÍMIR MORÁVEK

Eingegangen am 26. Juli 1958

[1]) KALÁB, D.: Pharmazie **11**, 265 (1956). — [2]) PALEČEK, E.: Naturwiss. **45**, 186 (1958). — [3]) KALÁB, D.: Publ. Fac. Sci. Univ. Masaryk, Brno No. **387**, 429 (1957). — [4]) MORÁVEK, V., Z. KADAŇKA u. L. MINÁŘOVÁ: Publ. Fac. Sci. Univ. Masaryk, Brno No. **387**, 401 (1957).

Polarographische Sauerstoffbestimmung bei Drucken über 1 atm und ihre Anwendung zur Sauerstoffverbrauchsmessung in biologischen Versuchen

Die polarographische Sauerstoffbestimmung unter Normaldruck im Bereich bis 1 atm O_2 ist seit den Arbeiten von VITEK[1]) häufig auch zur Sauerstoffverbrauchsbestimmung verwendet worden[2]),[3]) u. a.). Ihre Ergebnisse lassen sich mit

denen manometrischer Methoden gut vergleichen (eigene Versuche). Bei dickeren Gewebsschichten diffundiert bei 1 atm O_2-Druck nicht mehr genügend Sauerstoff in die oberflächenfernen Bezirke. Es macht sich ebenso wie zum Studium von Sauerstoffgiftwirkungen die Anwendung von Sauerstoff unter Überdruck notwendig. Ein für Drucke bis 5 atü O_2 konstruiertes Differentialmanometer ist von v. ISSEKUTZ[4]) angegeben. Wir haben versucht, die polarographische Sauerstoffverbrauchsmessung für den Überdruckbereich bis 10 atü O_2 einzurichten.

Die gesamte Analyseneinrichtung wird in einer Überdruckkammer montiert. Darin können mittels einstellbarer Überströmventile verschiedene meßbare Gasdrucke hergestellt und bei Durchströmung aufrechterhalten werden. Geeignete Wahl der Abmessungen der Analyseneinrichtung gewährleistet auch unter Druck normale Polarographiermöglichkeit. Aus der Kammer werden durch isolierte Buchsen nur die elektrischen Zuleitungen zum Polarographen geführt. Hinreichend zur Verbrauchsbestimmung ist die Ermittlung des Diffusionsstromes bei einem festen Kathodenpotential (z. B. −0,6 V). Die untersuchten Gewebe werden in Flüssigkeit gehalten. Dadurch wird die Entfernung von Stoffwechselprodukten durch Diffusion gegen über Aufbewahrung in Luft verbessert [s. [4])]. Vorratsgefäß und Spülvorrichtung erlauben mehrfachen Wechsel des O_2-Druckes in einem Versuch. Die Ableitung von bioelektrischen Potentialen ist bei dieser Anordnung möglich [z. B. [5])].

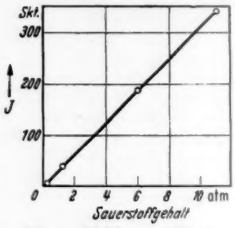


Fig. 1. Eichkurve. Messungen bei 20° C und −0,6 V. Aufgetragen sind die Galvanometerwerte bei Zimmerluft (20,8 % Sauertoff −6,5), 5 atü Preßluft (125 % Sauerstoff −38,5), 5 atü Sauerstoff (600% Sauerstoff −187), 10 atü Sauerstoff (1100 % Sauerstoff −344,5). Die Ergebnisse sind durch wiederholte Messungen reproduzierbar

Wie die Versuche zeigen, läßt sich die Sauerstoffbestimmung bis zu 10 atü O_2-Druck unabhängig vom Absolutdruck ausdehnen. Die Eichkurve ist in diesem Bereich linear über 100 % Sauerstoff (= 1 atm) fortsetzbar (Fig. 1). Diese Fortsetzung ist erlaubt, da der Bereich noch innerhalb der bekannten Konzentrationsgrenzen der Polarographie[6]) liegt. Die Ausspülung von großmolekularen Stoffwechselprodukten läßt sich an dem Verschwinden des Sauerstoffmaximums innerhalb weniger Minuten nach jeder Spülung erkennen. Durch elektrische Kompensation eines großen Teiles des Diffusionsstromes am Meßinstrument wird die Verwendung hoher Empfindlichkeitsgrade ermöglicht. Dieser Vorteil der Methode läßt Genauigkeiten erreichen, die brauchbare Sauerstoffverbrauchsmessungen erlauben. Über die Anwendung dieser Methodik wird an anderer Stelle[7]) ausführlich berichtet.

Physiologisches Institut der Universität, Leipzig

ERNST SCHUBERT

Eingegangen am 4. September 1958

[1]) VÍTEK, V.: Collect. Trav. chim. tchèques **7**, 537 (1935). — [2]) PETERING, A.G., u. F. DANIELS: J. Amer. Chem. Soc. **60**, 2796 (1938). — [3]) LONGMUIR, J.S.: Biochemic. J. **65**, 378 (1957). — [4]) ISSEKUTZ, B. v.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmakol. **202**, 550 (1943). — [5]) SICKEL, W., u. H.-G. LIPPMANN: Naturwiss. **45**, 67 (1958). — [6]) KOLTHOFF, J.M., u. J. J. LINGANE: Polarographie. New York u. London: Interscience Publ. 1952. — [7]) BAUEREISEN, E., H.-G. LIPPMANN, E. SCHUBERT u. W. SICKEL: Pflügers Arch. **1958** (im Druck).

Zur Frage der Kooperation intrazellulärer Oxydationssysteme

II. Reaktionen von löslichen und partikulären Diaphorasen mit einem mitochondrialen DPNH-Oxydase-System *)

In früheren Mitteilungen[1a]) wurde über eine katalytische Wirkung von Cyt. b_5 in der Reduktion von Cyt. c durch Diaphorasen berichtet. In diesem Zusammenhang wurde die biologische Funktion der Diaphorasen diskutiert. Jetzt beschreiben wir eine direkte Kooperation zwischen Diaphorasen und mitochondrialem Oxydasesystem, die sich von dem früher beschriebenen Effekt durch ihren Mechanismus unterscheidet.

Tabelle 1 zeigt, daß die Diaphorase von Erythrozyten eine Verdreifachung der Geschwindigkeit der DPNH-Oxydation im spektrophotometrischen DPNH-Oxydasetest bewirkt. Diese Reaktion ist durch RÜ hemmbar, somit verläuft vermutlich ihr Mechanismus über das Eisen der mitochondrialen Eisenflavoproteide[1b]).

In Tabelle 1 sind auch Versuche mit Seeigel-„Mikrosomen" enthalten, d.h. Teilchen, die durch Abwesenheit des Succinat-

Tabelle 1. *Der Einfluß von Erythrozyten-Diaphorase und Seeigel-„Mikrosomen" auf das DPNH-Oxydase-System von Herzmuskel*

Die Zahlenangaben der Ansätze sind in ml Stammlösung der verwendeten Präparate ausgedrückt, tatsächlich wurden zweckentsprechende Verdünnungen angewandt. Die Gewinnung der Seeigel-„Mikrosomen" erfolgte durch 180 min langes Zentrifugieren mit 100000 g. — Die Messungen wurden in 0,03 m Phosphatpuffer bei p_H 7,4 durchgeführt; die Extinktionsabnahme wurde bei 340 mμ gemessen.

System	Ansatz	DPNH-Oxyd. $E \cdot 10^{-3}$/min	Effekt $= \frac{HE+Diaph.}{HE}$	Hemmung %
Erythr. Diaph.	0,004 HE	13		
	0,004 HE + 0,002 NÜ	38	2,9	
	0,02 (HE + RÜ)	12		≃80
	0,02 (HE + RÜ) + 0,002 NÜ	14		≃90
Seeigel-‚Mikr.'	0,02 HE	20		
	0,02 HE + 0,012 Mikr.	72	3,6	
	0,02 (HE + RÜ)	2		≃90
	0,02 (HE + RÜ) + 0,012 Mikr.	4		≃90

und Cytochromoxydasesystems gekennzeichnet sind, aber hohe DPNH-Cyt. c-Reduktase-Aktivität aufweisen. Es ist bemerkenswert, daß sich diese Teilchen im DPNH-Oxydase-System wie lösliche Diaphorasen verhalten. Während die DPHN-Cyt. c-Reduktase der Seeigel-„Mikrosomen" nicht durch RÜ beeinflußt wird, ist die Kooperation zwischen Mikrosomen und mitochondrialem System durch RÜ hemmbar. Dies spricht dafür, daß die Kooperationsreaktion, d.h. der Übergang von Mikrosomen zu Mitochondrien nicht über die Cytochrome, sondern unterhalb, vermutlich über das Eisen der mitochondrialen Flavoproteide, erfolgt. Diese Verhältnisse sind in dem Schema der Fig. 1 versinnbildlicht. Die hier beschriebene direkte Reaktion zwischen Diaphorasen der löslichen Zellphase und dem mitochondrialen Oxydasesystem erlaubt zwei biologische Schlußfolgerungen: 1. ist hiermit noch ein Weg der intrazellulären Kooperation unter Beteiligung der Diaphorasen aufgezeigt; möglicherweise drückt sich die biologische Rolle der Diaphorasen in der Zelloxydation hauptsächlich über diesen Weg aus; 2. die Tatsache, daß die potentielle Durchsatzkapazität des mitochondrialen Systems das Dreifache ihrer DPNH-Oxydase-Aktivität ausmacht, unterstreicht die schon betonte Rolle der Mitochondrien[1a]) als gemeinsame Endstrecke der Zelloxydation, in die die Oxydationssysteme der anderen Zellanteile einmünden.

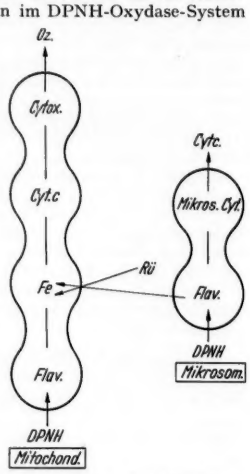


Fig. 1. Schema der Kooperation zwischen Seeigelmikrosomen und DPNH-Oxydase des Herzmuskels

Physiologisch-Chemisches Institut der Humboldt-Universität, Berlin (Direktor: Prof. Dr. Dr. S.M. RAPOPORT)

S. RAPOPORT und E.C.G. HOFMANN

Eingegangen am 1. September 1058

*) In dieser Arbeit werden folgende Abkürzungen verwendet: DPNH = red. Diphosphopyridinnukleotid. Cyt. = Cytochrom. RÜ = Hemmstoff der Atmungskette aus der überstehenden Flüssigkeit von Retikulozyten-Hämolysat. NÜ = Überstehende Flüssigkeit von reifen Erythrozyten. HE = Herzenzym.

[1]) RAPOPORT, S., u. C. WAGENKNECHT: a) Naturwiss. **44**, 515 (1957); b) Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **307**, 127 (1947); **309**, 201 (1957).

Die Beziehungen zwischen der molekularen Struktur verschiedener Wuchsstoffe und der Semipermeabilität lebender Membranen

Seit REINDERS[1]) Beobachtungen ist der Mechanismus der Indolyl-Essigsäurewirkung in der Zellularphysiologie detailierter untersucht worden. Alle Forscher kamen zum gleichen Resultat, nämlich daß die Stoffe mit Indol-Ringsystem in der Wasserpermeabilität von Pflanzenzellen Veränderungen hervorrufen und ebenso in der Ausdehnungsfähigkeit der Zellwände. Nach diesen wichtigen Entdeckungen bei der Indolylessigsäure wurden verschiedene Stoffe mit der für die Auxinaktivität nötigen Struktur gefunden. Unter diesen zog die Naphthalinessigsäure die Aufmerksamkeit verschiedener Forscher auf sich wegen der drastischen Wirkung in Verbindung mit der Zell- und Wasserrelation. Aber in den betreffenden Veröffentlichungen wurde nichts gesagt über die den vergrößerten Effekt bewirkenden Kräfte. So wurde in einer vorhergehenden Mitteilung der Versuch gemacht, die Wirkung von verschiedenen Wuchsstoffen zu vergleichen, welche verschiedene Nuklei wie etwa Phenyl-, Indolyl-, Naphthalin-Essigsäure auf den Wasseraustausch der Pflanzenzellen haben. Unter den Faktoren, welche für einen solchen Austausch in Frage kommen, wurde die Saugkraft und die Wasserpermeabilität der Zellen kontrolliert. Eine merkbare Wirkung der Stoffe auf die Saugkraft wurde nicht beobachtet. Deshalb wurde der zweite Faktor, die Wasserpermeabilität, eingehender untersucht.

In dieser Publikation wurde die Wirkung von Wuchsstoffen mit verschiedenen lipophilen Gruppen auf die Semipermeabilität der Grenzschichten kontrolliert. Die Messungen wurden kolorimetrisch für Anthocyaninexosmose und gravimetrisch für Wasserpermeabilität gemacht. Als Untersuchungsobjekte dienten Wurzeln der Roten Rübe und Kartoffelknollen. Die kolorimetrische Messung zeigte, daß die Stoffe keine destruktive Wirkung auf die Semipermeabilität der Protoplasten erzeugen. Auch mit größerer Konzentration und längerer Expositionszeit wurde keine statistisch nachweisbaren Veränderung beobachtet.

Die Resultate der gravimetrischen Bestimmung ließen eine leichte Zunahme in der Ausgangswasserpermeabilität im Vergleich mit der Eingangswasserpermeabilität erkennen, aber die erhaltenen Werte waren statistisch unbedeutend. So können die Resultate dieser Messung auch als Bestätigung der kolorimetrischen Bestimmung betrachtet werden.

Institut für Allgemeine Botanik der Universität, Istanbul
MÜRÜVVET HASMAN

Eingegangen am 17. Oktober 1958

[1]) REINDERS, D.E.: Proc. Kon. Akad. Wetensch. Amsterdam **41**, 820 (1938).

Über den Gehalt von Mohnpflanzen an Narkotolin

Nach der Entdeckung des Narkotolins in Mohnkapselauszügen durch WREDE[1]) sowie BAUMGARTEN und CHRIST[2]) vertrat BAUMGARTEN[3]) die Ansicht, daß Narkotolin durch partielle Entmethylierung von Narkotin erst bei der Reife der Mohnkapseln entstehe. Hierzu war BAUMGARTEN zunächst aus folgenden Gründen berechtigt: 1. Narkotolin war bis dahin im Opium noch nicht mit Sicherheit nachgewiesen worden. — 2. BAUMGARTEN machte vorerst rein zufällig die Beobachtung, daß der Gehalt an Narkotolin bei zweijähriger Lagerung anstieg. — 3. Bei der Untersuchung von Tabakblättern wurde in Analogie die Umwandlung von Nikotin in Nornikotin festgestellt.

Der eine von uns[4a]) konnte jedoch Narkotolin auch im Opium nachweisen. Der geringe Gehalt (weniger als 0,1%) sprach allerdings noch nicht wesentlich gegen die Annahme BAUMGARTENS. Dagegen muß die Zunahme an Narkotolin bei der Lagerung als sehr fraglich angesehen werden. Narkotolin unterliegt sehr leicht der Spaltung in Meconin und Kotarnolin[4b]), [5]), so daß bei der Isolierung des Alkaloids durch BAUMGARTEN, die offenbar auf präparativem Wege erfolgte, mit einem unterschiedlichen Verlust gerechnet werden muß, wodurch die differenten Ergebnisse ihre Erklärung finden könnten. Bei eigenen Lagerungsversuchen beobachteten wir gleichfalls teilweise eine Zunahme, in anderen Fällen jedoch eine Abnahme des Gehalts an diesem Alkaloid. Eine Erklärung für dieses unterschiedliche Verhalten kann vorerst noch nicht gegeben werden. Schließlich würde die Entstehung von Narkotolin aus Narkotin gegen die Auffassung sprechen, daß die Sauerstoffmethylverbindungen als Endprodukte anzusehen sind, in denen die Methylgruppen in einer durch den Organismus nicht mehr mobilisierbaren Form festgelegt werden[6]).

Bei weiterer Überprüfung des Gehaltes des Mohns an Nebenalkaloiden konnte nunmehr gezeigt werden, daß Narkotolin bereits in sehr jungen Pflanzen (2 bis 3 Wochen nach der Keimung) anzutreffen ist. Um auszuschließen, daß dieses erst beim Trocknen oder Lagern aus Narkotin entsteht, wurden frische Pflanzen sofort nach der Ernte ohne vorheriges Trocknen verarbeitet. Dabei konnte bisher an fünf verschiedenen Sorten festgestellt werden, daß Narkotolin im frühen Wachstumsstadium geradezu das „Hauptalkaloid" in mengenmäßiger Hinsicht darstellt. Es übertrifft dabei in den ersten Wochen der Entwicklung der Pflanzen die einzelnen anderen Alkaloide, teilweise um das Mehrfache (Tabelle 1).

Tabelle 1. *Gehalt an Alkaloiden nach 2, 3 und 4 Wochen nach der Keimung*

Wochen	Gehalt in %									
	Narkotolin		Morphin		Narkotin		Kodein		Thebain	
	a	*b*	*a*	*b*	*a*	*b*	*a*	*b*	*a*	*b*
2	0,015	0,004	0,004	0,004	0,009	0,006	0,006	0,005	0,003	0,002
3	0,016	0,004	0,009	0,009	0,01	0,007	0,006	0,007	0,003	0,003
4	0,018	0,005	0,011	0,013	0,013	0,007	0,008	0,006	0,003	0,0025

a Frisches Kraut, Alkaloidgehalt berechnet auf getrocknetes Kraut; *b* getrocknetes Kraut, 100°.

In bei 100° getrockneten Pflanzen sinkt der ursprüngliche Gehalt auf durchweg $^1/_4$ bis $^1/_5$ ab. Ein entsprechendes Verhalten der übrigen Alkaloide war nicht zu bemerken. Bei der Trocknung wird Narkotolin anscheinend nicht in Meconin und Kotarnolin gespalten, sondern in einer noch nicht bekannten Weise umgewandelt. Die Versuchsergebnisse deuten darüber hinaus auch auf eine Methylierung zu Narkotin hin, was noch durch weitere Versuche zu bestätigen ist.

Die Untersuchungen wurden mit Hilfe einer quantitativen papierchromatographischen Methode[7]) durchgeführt. Die Isolierung der Alkaloide wurde zur Überprüfung von Frischpflanzen modifiziert.

Herrn H. DÖHNERT danken wir auch an dieser Stelle für seine stets zuverlässige Mitarbeit.

Pharmazeutisches Institut der Humboldt-Universität, Berlin (Direktor: Prof. Dr. WEISS), *Berlin-Weißensee*
R. MIRAM und S. PFEIFER

Eingegangen am 16. September 1958

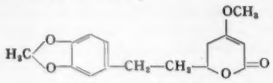
[1]) WREDE, F.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Pathol. Pharmakol. **184**, 331 (1937). — [2]) BAUMGARTEN, G., u. W. CHRIST: Pharmazie **5**, 80 (1950). — [3]) BAUMGARTEN, G.: Pharmazie **9**, 97 (1954). — Abhandlungen der Dtsch. Akademie der Wissenschaften zu Berlin, Tagungsbericht „Biochemie und Physiologie der Alkaloide", S. 91. — [4]) PFEIFER, S.: Arch. Pharmazie **290**, a) 209, b) 261 (1957). — [5]) PFEIFER, S., u. F. WEISS: Arch. Pharmazie **289**, 24 (1956). — [6]) SCHRÖTER, H.-B.: Pharmazie **10**, 141 (1955). — [7]) MIRAM, R., u. S. PFEIFFER: Pharmaz. Zentralhalle Deutschlands **96**, 457 (1957). — Sci. pharmaceut. (im Druck).

Dihydro-methysticin, ein sedatives Prinzip der Kawawurzel

Kawa-Kawa (Rhizom von Piper methysticum Forst) gilt bei den Eingeborenen Neu-Guineas als wirksames Beruhigungs- und Schlafmittel[1]). Beim Tierversuch steht nach K. SCHÜBEL[2]) im Vordergrund der Kawawirkung eine lähmende Beeinflussung des Zentralnervensystems, gekennzeichnet durch Somnolenz bis tiefe Narkose. Erstmalig gelang es A. G. VAN VEEN[3]), im Dihydro-kawain (= Marindin) einen chemisch einheitlichen Inhaltsstoff als Träger dieser Kawawirkung zu erkennen; wie der Autor ausdrücklich feststellt, waren weitere wirksame Prinzipien in der von ihm untersuchten Droge nicht enthalten.

Wir konnten jetzt aus Rhizoma Kawa-Kawa unbekannter Provenienz (Handelsdroge der Firma Pennick, New York) eine Verbindung vom Schmp. 118° isolieren, die — weißen Mäusen oder Ratten in Dosen von 100 bis 200 mg/kg peroral (mit Magensonde in Emulsionsform) eingegeben — nach etwa 20 min die Versuchstiere in den Schlafzustand versetzt. Das neue, sedativ wirksame Prinzip zeigte in allen physikalischen und chemischen Eigenschaften (Schmelzpunkt, Mischschmelzpunkt, CH-Werte, UV-Spektren, Farbreaktion mit konz.

Schwefelsäure) Übereinstimmung mit authentischem Dihydro-methysticin, erhalten durch katalytische Hydrierung von Methysticin mittels kolloidalem Palladium. Dihydromethysticin war schon früher von E. WINZHEIMER[4]), später von W. BORSCHE und W. PEITZSCH[5]) aus Kawaharz — allerdings nicht in reiner Form (ψ-Methysticin) — isoliert worden, ohne daß dessen Beteiligung an der typischen Drogen-Gesamtwirkung erkannt worden wäre[6]).



Dihydro-methysticin

Isolierung. 1000 g fein pulverisierte, lufttrockene Droge werden 48 Std lang im Soxhlet mit Äther extrahiert. Am Boden des Extraktionskolbens scheiden sich gelbbraune Kristallmassen (20,3 g) ab, die aus einem Gemisch von Yangonin (10,5 g isoliert, Schmp. 156°) und Methysticin (7,2 g isoliert, Schmp. 137°) bestehen. Der überstehende, grünbraun gefärbte Ätherextrakt wird auf ein Endvolumen von 400 ml eingeengt und über eine Säule mit neutralem Aluminiumoxyd (Merck; Aktivitätsstufe III—IV; Füllvolumen: 30 cm × 1,7² π cm²) filtriert. Nachwaschen mit weiteren 400 ml Äther liefert einen Durchlauf, aus dem beim stufenweisen Einengen zunächst Kawain (8,2 g; Schmp. 108 bis 110°) auskristallisiert; nach Schütteln der grüngefärbten Mutterlaugen mit Aktivkohle Merck, Einengen auf ein kleines Volumen von 30 ml und Stehenlassen in Eis (24 Std) konnten 3,3 g Dihydro-kawain (Schmp. 56 bis 60°) gesammelt werden. Dihydro-methysticin bleibt unter den angegebenen Bedingungen neben lackbildenden Farbstoffen und weiteren unbekannten Verunreinigungen an der Säule adsorbiert, und zwar in einer mittleren, etwa 10 cm breiten, gelb gefärbten Zone, die sich nach Austüpfeln mit konz. Schwefelsäure karmesinrot anfärbt. Nach Zerlegen wird diese Zone mit Methanol (100 ml, 24 Std) extrahiert. Wir destillierten den Alkohol ab, nahmen den Rückstand, der aus einem gelben, zähen Öl besteht, in 100 ml Äther auf und stellten die Lösung in Eis. Nach mehreren Stunden bildete sich ein dicker Kristallbrei, der sich aber als nicht einheitlich erwies: Nach Abnutschen und erneutem Lösen, diesmal in 70 ml Methanol, fielen zunächst noch 0,8 g Yangonin neben wenig Methysticin, nach Einengen auf 60 ml noch weitere 0,5 g Methysticin aus. Nachdem von diesen Verunreinigungen abdekantiert worden war, wurde die Lösung auf 40 ml eingeengt; es kristallisierten schließlich 4,0 g Dihydro-methysticin in Form von derben Prismen und Plättchen aus, die nach dem Umkristallisieren aus Methanol mit Aktivkohle bei 118° (Koflerblock) schmolzen. Im Mischschmelzpunkt mit authentischem Dihydromethysticin Schmp. 118°. Farbreaktion mit konz. Schwefelsäure karmesinrot. $C_{15}H_{16}O_5$ (276,3), ber.: C 65,19, H 5,84, gef.: C 65,12, H 5,84 (Analysen von A. Bernhardt, Mülheim/Ruhr). UV-Absorption in CH_3OH: λ_{max} 232 mμ (log ε = 4,18) und 288 mμ (log ε = 3,56).

Herrn Professor Dr. H. F. ZIPF (Direktor des Institutes für Veterinärpharmakologie der Freien Universität Berlin) hat uns durch großzügige Überlassung eines Arbeitsplatzes diese Versuche ermöglicht, wofür wir auch an dieser Stelle verbindlichst danken.

Institut für Pharmakognosie der Freien Universität Berlin, Berlin-Dahlem

R. HÄNSEL und H. U. BEIERSDORFF

Eingegangen am 16. September 1958

[1]) a) LEWIN, L.: Phantastica, S. 284—296. Berlin 1927. — Über Piper methysticum, Monographie. Berlin 1886. — b) VEEN, A. G. VAN: Proc. Akad. Wetensch. Amsterdam **41**, 855 (1938). — Geneeskund. Tijdschr. Nederl.-Indië **78**, 1941 (1938). — [2]) SCHÜBEL, K.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Pathol. Pharmakol. **102**, 250 (1924). — [3]) VEEN, A. G. VAN: Recueil Trav. Chim. Pays-Bas **58**, 521 (1939). — [4]) WINZHEIMER, E.: Arch. Pharmazie **246**, 338 (1908). — [5]) BORSCHE, W., u. W. PEITZSCH: Ber. dtsch. chem. Ges. **62**, 360 (1929). — [6]) BORSCHE, W.: Ber. dtsch. chem. Ges. **66**, 803 (1933).

Studies in Nopalea cochinellifera

This work is a continuation of work described in a previous communication[1]). The plant described as *Opuntia Sp.* has been identified as *Nopalea cochinellifera*, which has close resemblance to *Opuntia*. The maltase reported in the present communication resembles that reported by WHITE and MAKER[2]), a preperation from honey. As reported earlier it has shown to bring about group transfer reaction similar to the one suggested by DOUDOROFF *et al.*[3]) and BARKER and BOURNE[4]), in the following manner:

$$\text{Maltose} + \text{Maltose} \xrightarrow{\text{enzyme}} \text{maltose triose} + \text{glucose}.$$

Method. Cold water extract prepared from the fresh phylloclad of the plant was the source of the enzyme. The extract was dialysed and the enzyme precipitated with icecold acetone. The acetone powder was used to study the properties of the enzyme. A circular paper chromatographic method was standardized for the assay of the activity which is being reported elsewhere. The products of the reaction were qualitatively identified by the circular paper chromatographic technique for sugars as described by GIRI and NIGAM[5b]), using butanol:acetone:water = 20:70:10 as the developing solvent, and aniline hydrogen phthalate[6a]), triphenyl-tetrazolium chloride (T.T.C.), aniline-diphenyl amine-phosphoric acid and α-naphthyl amine as the chromogenic reagents.

Results. Products formed with maltose were glucose and maltosetriose. The identity of maltosetriose was confirmed by its mobility on circular paper chromatogram. It occupies a place below the isomaltose band. If maltosetriose was spotted on the same point on which the reaction mixture was applied, the band due to maltosetriose was intensified. If isomaltose was spotted on the same on which the reaction mixture was applied, a new band corresponding to isomaltose appeared on the chromatogram.

On elution of the maltosetriose band from the developed chromatogram and its hydrolysis with 1 N HCl, glucose was the only product obtained. Maltosetriose gave a brown coloured band with aniline hydrogen phthalate, deep red band with T.T.C. and a blue band with aniline-diphenyl amine-phosphoric acid reagent. The reaction with aniline diphenyl amine indicated that the compound possesses 1:4 glycosidice linkage[5b]). With dextrin the products of reaction were identified to be glucose, maltose and maltosetriose.

This reaction is quite significant. If the reaction with maltose leads to the formation of higher saccharides like maltosetriose and dextrins, with dextrin, the enzyme must catalyse a backward reaction in a reversible system. This has already been found to be so.

With raffinose, the products of the reaction where glucose, fructose and melibiose. Fructose was identified by its specific colour reaction with α-naphthyl amine reagent[5b]), glucose and galactose by their mobilities on a two-dimensional paper chromatogram, and melibiose by its reaction with T.T.C. with which it gives an intense red colour while raffinose does not react with T.T.C.

Mucilage in *Nopalea cochinellifera*. The plant under investigation is a succulent xerophyte containing a good amount of mucilage. It was isolated and examined for its constituents in the following manner.

50 gm of the fresh phylloclad of the plant where triturated with hot ethanol so that the concentration of the alcohol was 80 per cent. The solution being acidic a bit of $CaCO_3$ was added to it and kept over night in the refrigerator. It was then strained through a muslin cloth. The procedure was repeated twice with fresh quantities of 80 per cent alcohol. The residue was washed with ether to remove lipid material. It was then dried at 40° to 45° C, then triturated with cold water for about two hours and strained through a muslin cloth. It was then poured with stirring into about four times its volume of alcohol. The mucilage precipitated out, which was filtered, redissolved in cold water and reprecipitated with alcohol. It was again filtered and dried over potassium hydroxide in a desiccator. 2·765 gm of the dried material gave 0·870 gm of mucilage which corresponds to 2·76% in the fresh plant.

Hydrolysis. 0·1 gm of the mucilage was hydrolysed with 1 N hydrochloric acid (5 cc.) in an autoclave at 100° C under 5 lb pressure for 8 hours. After the hydrolysis was complete, hydrochloric acid was removed by heating the solution on a water bath. The hydrolysate was filtered and made to 2·5 cc. It was then examined for sugars by the circular paper chromatographic technique of GIRI and RAO[5a]) using butanol:acetic acid:water = 4:1:5[6b]); butanol:acetone:water = 20:70:10[5b]) as irrigating solvents and aniline hydrogen phthalate, aniline diphenylamine-phosphoric acid, and triphenyl tetrazolium chloride as the spray reagents. The following sugars were identified in the hydrolysate of the musilage by paper chromatography: 1. Arabinose, 2. Xylose, 3. Glucose, 4. Galactose.

The mucilage in the plant thus seems to content polysaccharides of pentoses like arabinose and xylose and hexoses like glucose and galactose. The free sugars in the alcoholic extract of the plant were found to be fructose, glucose, sucrose, maltose and traces of raffinose. The plant seems to be a good source of carbohydrates which are mainly present as polysaccharides in the mucilage.

The work was carried out at Wilson College, Bombay, under the guidance of Dr. J.W. AIRAN to whom the author is grateful.

Wilson College, Bombay

R.W.P. MASTER*)

Eingegangen am 7. Oktober 1958

*) Present Adress: Haffkine Institute, Parel, Bombay 12, India.

[1]) MASTER, R.W.P.: Naturwiss. 17, 401 (1956). — [2]) WHITE, J.W., and J. MAKER: Arch. Biochem. 42, 360 (1953). — [3]) DOUDOROFF, M., W.Z. HASSID E.W. PUTMAN, A.L. POTTER, and J. LEDERBERG: J. Biol. Chemistry 179, 921 (1949). — [4]) BARKER, S.A., and E.J. BOURNE: J. Chem. Soc. [London] 1952, 209. — [5a]) GIRI, K.V., and N.A.N. RAO: Nature [London] 169, 923 (1952). — [5b]) GIRI, K.V., and V.N. NIGAM: J. Indian Inst. Sci. 36, 49 (1954). — [6]) PARTRIDGE, S.M.: a) Nature [London] 164, 443 (1949). — b) Biochemic. J. 42, 238 (1947).

Antifibrinolytische Aktivität einiger Trypsin-Inhibitoren

Eine der wichtigsten Ursachen der gefährlichen Blutungen in der dritten Geburtsperiode ist die Afibrinogenämie, bei der die Aktivierung der Fibrino- bzw. Fibrinogenolyse oft eine grundsätzliche Rolle spielt. Bisher wurde nur Substitutionstherapie mit Blut, Plasma oder mit isoliertem Fibrinogen angewendet. Es gab keinen Weg zur Ausschaltung des Grundprozesses, der Fibrinolyse. An einigen Kliniken wurde inzwischen als Antifibrinolytikum intravenös appliziertes Protaminsulfat verwendet. Doch es gibt einige Arbeiten, in denen bereits die gegensätzliche Wirkung von Protamin nachgewiesen wurde[1]),[2]),[4]). Auch wir haben uns in unseren Versuchen überzeugt, daß Protamin in vitro ebenso gut wie in vivo keine antifibrinolytische Wirkung auszulösen vermag. Damit wollen wir die beschriebene therapeutische Wirkung von Protamin nicht bestreiten, es geht vielmehr um einen anderen Wirkungsmechanismus.

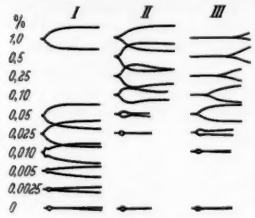


Fig. 1

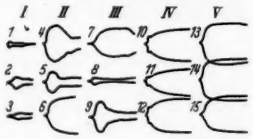


Fig. 2

Fig. 1. Fibrinolyse in vitro im Kaninchenplasma nach Zusatz von Inhibitoren, Rekalzifizierung und Aktivierung durch Streptokinase (SK). Steigende Konzentrationen von zugefügten Trypsin-Inhibitoren hemmen die Fibrinolyse. Inhibitor aus Soja hemmt außerdem die Blutgerinnung. Links Konzentrationen (in %). *I* Inhibitor aus Pankreas, *II* aus Kartoffeln, *III* aus Soja

Fig. 2. In der ersten Spalte Fibrinolyse nach intravenöser Applikation von SK. In weiteren Spalten Fibrinolysehemmung durch Applikation von Inhibitoren i.v. 5 min vor SK-Applikation. Jede Kurve entspricht einem anderen Versuchstier. *I* Streptokinase (SK) allein. *II* SK + Inhibitor aus Kartoffeln (20 mg = 4000 E/kg). *III* SK + Inhibitor aus Soja (10 mg = 3600 E/kg). *IV* SK + Inhibitor aus Pankreas (1 mg = 500 E/kg). *V* Kontrolle ohne Applikation

Nun aber lag es nahe, die antifibrinolytische Wirkung einiger bekannter Proteasen-Inhibitoren zu untersuchen. Es gibt bereits einige Angaben über diese Wirkung des Trypsin-Inhibitors aus Soja in vitro und auch in vivo[3-5]). Wir verglichen die antifibrinolytischen Aktivitäten von steigenden Konzentrationen von Inhibitoren aus Kartoffeln, aus Soja-Bohnen und aus Pankreas in vitro mit Hilfe der thromboelastographischen Registrierung (Fig. 1). Die Fibrinolyse wurde vorher durch Zusatz von Streptokinase zu Kaninchenplasma aktiviert. In dieser Versuchsordnung hemmten alle Inhibitoren die Fibrinolyse, aber bei weitem der aktivste war der Inhibitor aus Pankreas, der schon in der Konzentration von 0,01% die Bildung von relativ festem Koagulum ermöglichte. Soja-Inhibitor zeigte bei höheren Konzentrationen eine ausgeprägte gerinnungshemmende Wirkung.

In vivo wurden die Inhibitoren neben Streptokinase den Kaninchen intravenös appliziert (Fig. 2). Es wurden die Dosen gewählt, die einen eben markanten, nicht aber den maximalen Effekt auslösten, so daß die qualitativen Unterschiede besser wahrnehmbar wurden. Höhere Dosen blockierten schon die Fibrinolyse vollkommen. Der pankreatische Trypsin-Inhibitor ermöglicht wieder bereits in Dosen von 1 mg/kg die Bildung von Gerinnsel, dessen Festigkeit sich der Kontrolle näherte. Auch gewisse qualitative Unterschiede zwischen den Wirkungen der Inhibitoren waren merkbar.

Zusammenfassend konnten wir feststellen, daß der Trypsin-Inhibitor aus Pankreas ein höchst aktives Antifibrinolytikum darstellt, das schon in relativ niedrigen Dosen volle Blockierung von experimenteller Fibrinolyse ermöglicht. Die Vorbereitung der klinischen Prüfungen ist im Gange.

Forschungsinstitut für Pharmazie und Biochemie, Prag 12, Kouřimská 17, Tschechoslowakei

J. HLADOVEC, V. MANSFELD und Z. HORÁKOVÁ

Eingegangen am 29. Juli 1958

[1]) KAULLA, K.N. v.: Sang 22, 720 (1951). — [2]) HEINRICH, R., u. E. NOE: Fed. Proc. 15, 90 (1956). — [3]) FERGUSON, J.H., B.L. TRAVIS u. E.B. GERHEIM: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 64, 285 (1947). — [4]) SCROGGIE, A.E., L.B. JAQUES u. M. ROCHA E SILVA: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 66, 326 (1947). — [5]) RUSH, B. jr., u. E.E. CLIFFTON: Amer. J. Physiol. 166, 485 (1951).

Cytochemische Schwermetall-Lokalisation im menschlichen Knochenmark — ein Beitrag zum Vitamin B_{12}-Nachweis

Schon in früheren Untersuchungen[1]),[2]) haben wir uns mit dem Gehalt des Blutes an verschiedenen Spurenelementen befaßt. So konnten wir z.B. mit cytochemischen und quantitativ-chemischen Methoden nachweisen, daß die Granula neutrophiler Leukozyten reich an Zink sind, während in der Granulation eosinophiler weißer Blutkörperchen reichlich Kupfer und Zink nebeneinander vorliegen. Ähnlich wie die Eosinophilen verhielten sich die Granula der basophilen Leukozyten. Wir konnten zeigen, daß der Zinkgehalt der Granulozyten mit ihrem Reifungsgrad ansteigt. Diese Untersuchungsergebnisse wurden am peripheren Blut von Gesunden und Kranken mit chronisch-myeloischer Leukämie gewonnen.

In der Folgezeit haben wir menschliche Knochenmarkszellen untersucht. Hierbei konnten wir die am peripheren Blut für die Granulozyten und deren Vorstufen gefundenen Ergebnisse bestätigen. Darüber hinaus erzielten wir in den kernhaltigen Vorstufen der roten Blutkörperchen mittels unserer schon früher veröffentlichten Dithizonmethode[2b]),*) eine positive Reaktion. So fand sich in den Chromatinlücken der Zellkerne von basophilen, polychromatischen und orthochromatischen Erythroblasten eine fleckig-rotviolette Farbreaktion mit unserem Dithizonreagenz. Die Intensität der Färbung nimmt in der oben angeführten Reihenfolge zu. Bei den basophilen, polychromatischen und zum Teil auch noch orthochromatischen Erythroblasten findet sich außerdem ein rotviolett gefärbter Hof zwischen Zellkern und Cytoplasma. Nach der Farbqualität der Reaktion konnte es sich weder um Zink (rosa) noch um Kupfer (braunrot) handeln. Vielmehr wies die rotviolette Färbung auf das Vorliegen des Kobaltkomplexes des Dithizons hin.

Kobalt ist bekanntlich in dem für die Bildung normaler roter Blutkörperchen notwendigen Cyanocobalamin enthalten. Bei der Dithizonextraktion von reinem Vitamin B_{12} konnte aber spektralphotometrisch kein Kobalt-Dithizonat nachgewiesen werden. Wurde jedoch das Vitamin-B_{12} den für die Hitzefixation unserer Präparate entsprechenden Bedingungen[2b]) ausgesetzt, so ergab sich mit Dithizon die gleiche rotviolette Färbung wie in den Zellkernen der Vorstufen roter Blutkörperchen.

Wir glauben, aus unseren Befunden schließen zu können, daß es auf diese Weise gelungen ist, in den kernhaltigen Vorstufen der roten Blutzellen Vitamin B_{12} nachzuweisen und zu lokalisieren. Zu dieser Vorstellung paßt gut, daß wir in Megaloblasten (den abnormen kernhaltigen Entwicklungsstufen der roten Blutkörperchen bei perniciöser Anämie) die beschriebene Farbreaktion nicht erzielen konnten. Über Einzelheiten soll an anderer Stelle berichtet werden.

II. Medizinische Universitätsklinik, Frankfurt a.M.

R. AMANN und K. SCHULTIS

Eingegangen am 20. August 1958

*) 40 ml Aqua bidest. werden zum Sieden erhitzt, 2,5 g Ammoniumbicarbonat allmählich zugegeben. 250 mg Dithizon (Merck

werden in 20 ml absolutem Äthanol heiß gelöst und eine Messerspitze Ammoniumbicarbonat zugesetzt. Beide Lösungen werden gemischt und weiter erhitzt, bis Alkohol und Ammoniumbicarbonat weitgehend verflüchtigt sind und sich die ersten Dithizonkristalle an der Oberfläche bilden. Die Objektträger werden 1 bis 5 sec in die auf 40° abgekühlte Lösung eingetaucht, anschließend sofort mit kaltem Aqua bidest. abgespült. Kerngegenfärbung mit 0,1 %iger wäßriger Methylenblaulösung.

[1]) WOLFF, H., u. R. AMANN: Klin. Wschr. 1951, 316. — [2]) AMANN, R., u. H. P. WOLFF: a) V. Kongreß Europ. Ges. für Haematol. 1955 (Freiburg), S. 174; b) Z. exp. Med. 127, 281 (1956).

Untersuchungen an Knorpeltransplantaten mit markiertem Phosphat

Der Erfolg der Gewebetransplantation hängt immer von der Lebendigkeit und der metabolischen Aktivität der Transplantate ab. Es gibt leider wenige Methoden, welche eine zuverlässige Beurteilung dieser Eigenschaften ermöglichen. Zur Zeit werden die manometrischen Methoden und die Isotopenspurentechnik mit den markierten Verbindungen als zweckmäßig betrachtet. In unseren Versuchen beschäftigten wir uns mit der Lebendigkeit und der metabolischen Aktivität von verschiedenartig verpflanzten Knorpeltransplantaten (Auto-, Homo- und Hetero-Tr.) bei Kaninchen. Die bisherigen Kenntnisse über diese Frage sind meist empirischer Natur; eine rationale Erklärung der dabei verlaufenden Prozesse gibt es nicht.

Vom theoretischen Standpunkte aus war schon früher bekannt, daß die anaerobe Glykolyse[1]), [2]) eine Stütze der metabolischen Aktivität des Knorpels bildet, wie es mit den manometrischen Methoden[3]), [4]) bewiesen war. Da für die Glykolyse eine Zufuhr der Phosphationen von außen notwendig ist,

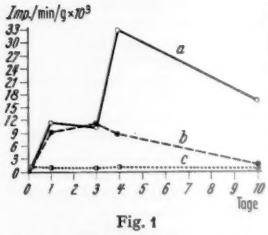


Fig. 1

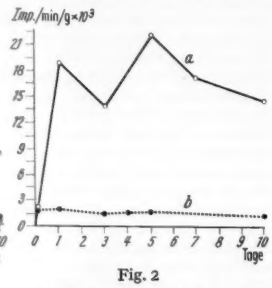


Fig. 2

Fig. 1. Zeitlicher Verlauf der Phosphatinkorporation in vivo. *a* Auto-, *b* Homo-, *c* Hetero-Implantationen

Fig. 2. Vergleich der Phosphatinkorporation bei demselben Knorpel (frischer Menschenknorpel). *a* in vitro, *b* Heterotransplantat in vivo

versuchten wir zu beweisen, daß die Radioaktivität des eingebauten $P^{32}O_4^{III}$-Ions als Maß der metabolischen Aktivität des Knorpeltransplantates betrachtet werden kann. Messungen des Sauerstoffverbrauchs und des Radioaktivitätsanstiegs eines Knorpeltransplantates, welche simultan erfolgten, zeigten ein konstantes Verhältnis des Sauerstoffes zum Phosphor von 3,02:1. Dies ist in sehr guter Übereinstimmung mit der Theorie, nach der für anaerobe Glykolyse von 1 Mol Glukose 6 Mol Sauerstoff und 2 Mol Phosphor verbraucht werden. Wir konnten daher die Radioaktivität des Transplantates sowohl als Maß seiner Nährstoffübertragung als auch als Maß seiner metabolischen Aktivität betrachten.

Die Auto- und Homotransplantation wurde mit Ohrmuschelknorpelstücken ohne Perichondrium durchgeführt, welche steril unter die Haut der rechten Rückenseite abgelegt wurden. Zur Heterotransplantation verwendeten wir einen frischen, nicht konservierten Menschenknorpel, der während einer Operation entnommen war und auf ähnliche Weise den Kaninchen eingepflanzt wurde. Alle Knorpeltransplantate waren ähnlich in Form und Gewicht. Die Kaninchen waren ungefähr 4 kg schwere Weibchen vom Stamm Chinchilla mit einheitlicher Ernährung. Als Kontrolle dienten einerseits Ohrenmuschelknorpel *in situ* und andererseits ein anderer, der in Krebs-Ringer-Phosphatpufferlösung bei 37° aufbewahrt war. Sofort nach der Transplantation erhielt jedes Tier 500 µC $Na_2HP^{32}O_4$ pro kg Gewicht subkutan. Die Injektion erfolgte an der anderen Seite, als die Transplantate abgelegt waren, um ihre Kontamination zu vermeiden und die Zufuhr der markierten Phosphate in die Transplantate nur durch den Kreislauf zu sichern. Einzelne Transplantate wurden in bestimmten Zeitabschnitten steril entnommen, in Wasser gespült, um die Spuren der Radioaktivität von der Oberfläche zu beseitigen, abgetrocknet und feucht gewogen.

Die Proben wurden im Quarztiegel verbrannt, die Asche in verdünnter Salzsäure gelöst und ein bestimmtes Volumen auf die Unterlage zur Aktivitätsmessung gebracht. Gemessen wurden die β-Strahlen relativ gegen Standard. Die Zeit der Einzelmessung betrug in den meisten Fällen 5 min (Mittelfehler $\pm$ 1,2 bis 2%). Fig. 1 zeigt den zeitlichen Verlauf der Phosphatinkorporation in Imp.zahl/min/g. Die höchste Aktivität wiesen die Autotransplantate auf, eine niedrigere die Homotransplantate, die Heterotransplantate waren fast inaktiv. Daraus kann man schließen: Die Auto- und Homotransplantate gliedern sich in den Empfängerstoffwechsel unmittelbar nach der Transplantation ein und nicht erst nach 18 bis 20 Std, wie man bisher vermutete. Das Heterotransplantat nimmt dagegen an diesem Stoffwechsel nicht teil. Es bleibt aber selbst unter den beschriebenen Bedingungen immer lebendig; der Kontrollversuch in der Krebs-Ringer-Phosphatlösung *in vitro* (Fig. 2) beweist, daß seine Radioaktivität der der anderen lebendigen Transplantate sehr nahe ist. Der metabolische Respirationsquotient des Knorpels (Q_{O_2}) änderte sich nicht während der Heterotransplantation (26 Tage lang) im Vergleich zu demselben Wert vor der Transplantation. Daraus folgt, daß das Heterotransplantat *in vivo* seine eigene Gewebestrukturen verbrauchen muß, um den Energieanspruch zu decken. Das äußert sich in der totalen Resorption des Transplantates, die oft in Tierversuchen festgestellt worden ist.

Die eigentliche Ursache des verhinderten Nahrstoffübertrages bei den Heterotransplantaten ist nicht bekannt. Dieses Hindernis, das schon in den ersten Stunden nach der Transplantation eintritt, ist aber kaum immunologischer Natur, wie man es bisher vermutete. Unseren eigenen Versuchen nach scheint es, daß die Ursache der Mißerfolge bei Heterotransplantationen und manchen Homotransplantationen in der biochemischen Verschiedenheit der übertragenden Systeme liegt, und das deutet auf die Existenz artspezifischer Inhibitoren. Weitere Versuche über diese Frage sind im Gange.

Isotopenlabor und Klinik für plastische Chirurgie der Karls-Universität in Prag 12, Šrobárova 50

JAN MUSIL und RICHARD KLUZÁK

Eingegangen am 18. August 1958

[1]) BYWATERS, E. G. L.: Nature [London] 138, 30, 288 (1936). — [2]) DICKENS, F., u. H. WEIL-MALHERBE: Nature [London] 138, 125 (1936). — [3]) HILLS, G. M.: Biochemic. J. 34, 1070 (1940). — [4]) LUTWAK-MANN, C.: Biochemic. J. 34, 517 (1940).

Über die vermeintliche androgene Wirkung einiger 3-Enoläther, die sich von Δ^4-3-Ketosteroiden der androgenen Reihe ableiten, und über ihre Anwendung beim Mammakarzinom der Frau.

In früheren Mitteilungen[1]) war die Behauptung enthalten, daß der 3-Enol-Benzyläther des Testosteron-phenylpropionats eine hochgradige androgene Wirkung im Vesiculardrüsen-Gewichtstest entwickelt und damit eine Ausnahme unter den Substanzen dieser Art darstellt. Das hat sich später als irrtümlich erwiesen. Unsere Nachuntersuchungen haben nämlich gezeigt, daß auch die genannte Substanz keinerlei androgene Wirksamkeit an den Tag legt.

Außer diesem Produkt wurden in meinem Laboratorium ungefähr 40 Enoläther hergestellt, welche durch Kondensation aliphatischer, zykloaliphatischer, arylaliphatischer, manchmal substituierter Alkohole mit Δ^4-3-Ketonen der androgenen Reihe gewonnen wurden. Keines dieser Präparate erwies sich als androgen wirksam. Das steht mit manchen Daten der Patentliteratur[2]) im Widerspruch, ist jedoch in Übereinstimmung mit den Beobachtungen von JUNKMANN[3]) über zwei von ihm nicht näher beschriebene 3-Enoläther des Testosterons und des Androstendions, die aber nach dem angegebenen Schmelzpunkt als Äthyl-Enoläther mit Sicherheit aufzufassen sind.

Die Bedeutung vorliegender Berichtigung ergibt sich aus folgenden Tatsachen. GARDINI, welcher auf meine Veranlassung mit obengenanntem 3-Enol-Benzyläther des Testosteronphenylpropionats Mammakarzinome bei Frauen behandelte, berichtete[4]) über bedeutend günstige Resultate, die hauptsächlich bei primärem Mammakarzinom und bei Metastasen in Weichgeweben beobachtet wurden. Das war also das erste Beispiel eines Testosteronderivates, welches bei ausbleibender androgener Wirkung das Mammakarzinom günstig zu beeinflussen vermochte. Bei den gewöhnlich ver-

wendeten Androgenen (Testosteronpropionat, Methyltestosteron, Androstanolon, Fluoxymesteron) entspricht hingegen die therapeutische Dosis ungefähr der virilisierenden Dosis[5], [6]).

Um die klinische Überprüfung auch auf andere Enoläther auszudehnen, veranlaßte ich die Anwendung mehrerer dieser Produkte in verschiedenen Kliniken. Viele der geprüften Substanzen verursachten bei den meisten Brustkarzinomfällen (die Knochenmetastasen miteinbegriffen) subjektive und objektive Besserungen, ohne daß während der Behandlung virilisierende Phänomene oder sonstige unerwünschte Nebenerscheinungen beobachtet wurden. Das stimmt mit der fehlenden androgenen Wirkung bei Laboratoriumstieren überein. Die praktische Bedeutung dieser Tatsache liegt auf der Hand.

Hinsichtlich der theoretischen Seite dieser Befunde soll gesagt werden, daß verschiedene der obengenannten von uns hergestellten Enoläther nach den „Procedures of hormone assay" der „Endrocrinological Section" of Cancer Chemotherapy National Service Center, Bethesda, Md. (U.S.A.), nachgeprüft wurden, und zwar nicht nur auf ihre „androgenic and myogenic activity" (assay N° 1 P), sondern auch auf die „uterotrophic activity" (assay N° 2 P), „anti-uterotrophic activity" (assay N° 3), ferner auf die „inhibition of androgenic and myogenic activity" (assay N° 17). Die Resultate fielen stets negativ aus *).

Wir stehen also zum erstenmal Steroidderivaten gegenüber, welche gegen das Mammakarzinom der Frau wirksam sind, die aber weder Sexualhormon-Wirkungen noch die entsprechenden Antisexualhormon-Wirkungen in sichtbarer Weise entfalten.

Verfasser möchte an dieser Stelle seinen Mitarbeitern Herrn Dr. R. Gardi für den chemischen Teil der Versuche, Fräulein Dr. M. Koller für die biologischen Prüfungen, Herrn Professor A. Meli für verschiedene ergänzenden pharmakologischen Prüfungen und Herrn Dr. L. Arpesella für die allgemeine Mithilfe seinen besten Dank aussprechen.

Casatenovo (Como), VISTER Versuchslaboratorien, Italien

Alberto Ercoli

Eingegangen am 11. August 1958

*) Einige dieser Bestimmungen verdanke ich dem „Endocrinological Panel" of the C. C. N. S. C.

[1]) Ercoli, A., u. M. Koller: Naturwiss. **43**, 356 (1956). — Ercoli, A., u. M. Koller: Giorn. ital. Chemioterap. **3**, 380 (1956). — [2]) Französisches P. 875070. — Schwz.P. 220206. — U.S.P. 2363338. C. A. **39**, 3127[2] (1945). — D.B.P. 896804. — [3]) Junkmann, K.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Pathol. Pharmakol. **215**, 85 (1952). — [4]) Gardini, G. F.: Giorn. ital. Chemioterap. **3**, 408 (1956). — Atti II Simpos. internaz. cancro mamm. Perugia Juli 1957. (Im Druck.) — Vgl. Minerva med. [Torino] **48**, 2941 (1957). — [5]) Field, J. B.: Clin. Res. Proc. **5**, 38 (1957). — [6]) Kennedy, B. J.: Cancer [N.Y.] **10**, 813 (1957).

The Interactions between Caffeine, Guanosine and Adenosine related to the Induction of Respiration-deficient Yeast

Among many chemicals which induce mutations in bacteria and fungi, some are at the same time effective to induce respiration deficiency ("petite colonie" mutant) in yeast. Caffeine is a remarkable example in this respect. A strain of baker's yeast (diploid), which originally contained less than 1% respiration-deficient cells, was cultured in an ordinary liquid nutrient medium containing various concentrations of caffeine. Samples were taken after 24 and 48 hours and scored for the respiration-deficient cells by the tetrazolium overlay method[1]).

Two tenths per cent caffeine was effective to increase the frequency of the respiration-deficient cells close to 100% after 48 hours of growth, while the concentrations below 0·5% were ineffective. It seems strange that the frequency at 0·1% once increased up to 5% after 24 hours but decreased down to 1% after 48 hours. A possible explanation may be that 0·1% is a critical concentration which is not strong enough to exert the effect on all of the rapidly multiplying cells in later stages of the growth. Addition of caffeine more or less delayed the populational growth, but did not seriously affect the final level. Perhaps a certain process of partial killing and adaptation is involved in the early stages of the growth. This concentration range is much higher than that of caffeine applied to bacteria[2]), [3]) and fungus[4]). It is also much higher than in acriflavine which is effective at as low as 0·0001% when added to the same basal medium.

To prove the actual induction by caffeine, and exclude the selective advantage of the respiration-deficient cells over the normal cells, a test was carried out using the glycerol medium which contained 2% glycerol instead of glucose[5]). A significant increase in the frequency of respiration-deficient cells up to 23% was found at 0·2% caffeine, and no increase under 0·1%. Since the respiration-deficient cells do not multiply in this medium, the increase is actually due to the induction by caffeine.

According to Novick and Szilard, guanosine[3]) and adenosine[6]) counteracted the mutagenic effect of caffeine on *E. coli*. To see whether there are similar interactions in the case of yeast, various combinations of caffeine and those antagonists were tested in the ordinary nutrient medium. As shown in table 1, the effect of caffeine was remarkably counteracted when guanosine and adenosine were added simultaneously. Both of the latter were ineffective either to antagonize caffeine or to induce respiration-deficient cells when added separately. The combination of guanosine and adenosine without caffeine did not increase the respiration-deficient cells at all.

Table 1. *The frequency of respiration-deficient cells in the originally normal cultures affected by various combinations of caffeine, guanosine and adenosine. Sampled after 48 hours of growth*

Caffeine (%) .	0·2	0·2	—	—	—	0·2	0·2
Guanosine (%)	0·2	—	0·2	—	0·2	0·2	0·1
Adenosine (%)	—	0·2	—	0·2	0·2	0·2	0·2
Total cell number/ml .	$2{\cdot}7\times10^7$	$2{\cdot}6\times10^7$	$5{\cdot}7\times10^7$	$6{\cdot}7\times10^7$	$6{\cdot}5\times10^7$	$7{\cdot}1\times10^6$	$6{\cdot}1\times10^6$
Resp. def. cells (%) . .	97	97	<1	<1	<1	26	21

The results of the above-mentioned experiments seem to have a close relation to the findings by Slonimski and de Robichon-Szulmajster[7]). In their experiments on yeast in a synthetic medium, the effect of euflavine was considerably counteracted by adenine, guanine and their combinations. As considered from the effect of desoxyribonucleic acid breakdown products to modify the population changes in pneumococci[8]), a certain sort of disturbance in the nucleic acid metabolism may be the common basis of both of the induced gene mutations and induced respiration deficiency which is cytoplasmic in most of the cases.

Department of Biology, Institute of Polytechnics, Osaka City University, Osaka, Japan

Susumu Nagai and Hideko Nagai

Eingegangen am 29. September 1958

[1]) Ogur, M., R. St. John and S. Nagai: Science **125**, 928 (1957). [2]) Demerec, M., G. Bertani and J. Flint: Amer. Naturalist **85**, 119 (1951). — [3]) Novick, A., and L. Szilard: Nature [London] **170**, 926 (1952). — [4]) Fries, N., and K. Kihlman: Nature [London] **162**, 573 (1948). — [5]) Nagai, S., and H. Nagai: Naturwiss. **45**, 441 (1958). — [6]) Novick, A.: Mutation (Brookhaven Symposia in Biology) **8**, 201 (1956). — [7]) Slonimski, P. P., and H. de Robichon-Szulmajster: In Ciba Foundation Symposium on Drug Resistance in Micro-organisms, p. 210ff., London 1957. — [8]) Braun, W., W. Firshein and J. Whallon: Science **125**, 445 (1957).

Zur Auslösung von Plasmabewegungen in Ruhezellen[1])

1951 hatten wir zeigen können, daß lebende Ruhezellen in vitro, die weitgehende Formkonstanz besitzen, in Gebilde steter Formänderung mit starken Plasmabewegungen übergehen, wenn im Stoffwechsel die energieliefernden Prozesse [Produktion von Adenosintriphosphorsäure (ATP)] teilweise gehemmt werden[1]), [2a]). Die Bewegungsauslösung läßt sich durch Zugabe von ATP zum Kulturmedium unterdrücken. Weiter kann die Wiederausbildung eines formkonstanten Ruheplasmas aus dem sich während der Zellteilung stark bewegenden Zellplasma durch gleichartige Stoffwechselhemmungen verhindert werden[3]). Dornfeld und Owczarzak[4]) beobachteten beide Phänomene an lebenden Fibroblasten nach Zugabe von äthylendiamin-tetraessigsaurem Natrium (Trilon B), das durch Chelatbildung Kationen bindet, die entweder für die Wechselwirkung zwischen formveränderlichen Proteinen und ATP oder für den Stoffwechsel oder für den Quellungszustand von Proteinen[2b]) bedeutsam sind.

Die Veröffentlichung von Dornfeld veranlaßt uns zur Mitteilung einer Korrektur der Angabe in der früheren Arbeit[1]), in der das 2,4-Dinitrophenol als nicht wirksam hinsichtlich der Auslösung von Plasmabewegungen angegeben ist. In der Zwischenzeit haben wir bei Untersuchungen mit anderer Fragestellung mit einem neuen Präparat von 2,4-Dinitrophenol (30 bis 100 γ/ml) an lebenden Fibroblasten auch die

früher[1],[2a]) beschriebenen Phänomene der Auslösung der Plasmabewegung beobachten können. Es ist heute nicht mehr festzustellen, warum das früher verwendete, inzwischen verbrauchte Präparat von 2,4-Dinitrophenol keine Wirkung zeigte. In Tabelle 1 der Arbeit[1]) ist das — hinter 2,4-Dinitrophenol durch + zu ersetzen. 2,4-Dinitrophenol entkoppelt die oxydative Phosphorylierung[5]) und fügt sich damit der Gruppe von Stoffen ein, die den ATP-Spiegel der Zelle senken und Plasmabewegungen in Ruhezellen auslösen.

Institut für Experimentelle Krebsforschung der Universität, Heidelberg

HANS LETTRÉ und RENATE LETTRÉ

Eingegangen am 16. September 1958

[1]) Nachtrag zu der Arbeit von LETTRÉ, H., M. ALBRECHT u. R. LETTRÉ: Naturwiss. 38, 505 (1951). — [2]) LETTRÉ, H.: a) Naturwiss. 38, 490 (1951); b) Ergebn. Physiol. biol. Chem. exp. Pharmakol. 46, 434 (1950). — [3]) LETTRÉ, H., u. A. SCHLEICH: Protoplasma [Wien] 44, 314 (1954). — [4]) DORNFELD, E. J., u. A. OWCZARZAK: J. Biophys. Biochem. Cytol. 4, 243 (1958). — [5]) LOOMIS, W. F., u. F. LIPMANN: J. Biol. Chemistry 173, 807 (1948).

Cytochrome-oxydase et Résistance à l'Hydrazide de l'Acide Isonicotinique (INH) des Mycobactéries (Souches B.C.G.)

Les travaux de MIDDLEBROOK[1]) ont montré que les mycobactéries adaptées à l'hydrazide de l'acide isonicotinique (INH) perdent leur activité catalasique, et les travaux d'ANDREYEW et coll.[2]) ont montré que ces mêmes bactéries ont une activité peroxydasique affaiblie ou nulle. TIRUNARAYANAN et VISCHER[3]) soutiennent que seules les mycobactéries possédant une peroxydase, sont sensibles à l'INH. Ces faits ont suggéré l'éventualité d'une interaction entre l'INH et ces enzymes héminiques[4]).

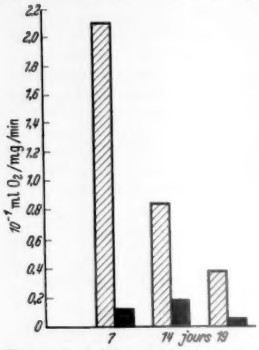


Fig. 1. Activité cytochrome-oxydasique de la variante B.C.G. sensible et résistante à l'INH ■ B.C.G. sensible ■ B.C.G. résistante

Parmi les hémenzymes d'importance fondamentale dans la catène respiratoire des cellules aérobes et dont l'action n'a pas encore été contrôlée en rapport à la résistance à l'INH, la cytochrome-oxydase occupe une position centrale. Cette note expose les résultats des recherches comparatives effectuées par nous dans cette direction, concernant une souche B.C.G. sensible à l'INH et la même souche après adaptation à l'INH (250 γ/ml).

Ayant constaté dans de nombreux travaux antérieurs[5]) l'importance de la phase de croissance du germe pour l'appréciation de l'activité enzymatique, nos déterminations ont inclu les germes appartenant aux cultures de 7, 14 et 19 jours (milieu Sauton). La cytochrome-oxydase a été déterminée sur les germes intacts et préalablement lavés à l'eau bidistillée selon la méthode de STOTZ[6]). L'oxygène fixé en présence du cytochrome C et de l'hydroquinone a été mesuré dans l'appareil de Warburg. Les valeurs sont exprimées en ml O_2/mg/minute. Fig. 1 résume nos résultats.

On constate pour toutes les phases de croissance du germe une réduction très importante de l'activité cytochrome-oxydasique chez les bactéries adaptées à l'INH. Nos résultats indiquant l'affaiblissement intense de la cytochrome-oxydase chez le B.C.G. résistant à l'INH, sont un fait en plus contribuant à compléter l'image de l'action inhibitrice exercée par cet antibiotique sur les hémenzymes cellulaires.

Institut de Microbiologie, Parazitologie et Épidémiologie „Dr. I. Cantacuzino", Section de Biochimie Générale, Laboratoire d'Enzymologie, et Section B.C.G. Bucarest, Roumanie

EUGENIA SORU, MARIA ISTRATI et MARIA PARASCHIVESCO

Eingegangen am 25. August 1958

[1]) MIDDLEBROOK, G.: Amer. Rev. Tubercul. 64, 471 (1954). — [2]) ANDREYEW, A., CH. GERNEZ-RIEUX et A. TACQUET: Ann. Inst. Pasteur 91, 586 (1956). — [3]) TIRUNARAYANAN, M. O., et W. A. VISCHER: Naturwiss. 44, 11 (1957). — [4]) KRÜGER-THIEMER, EKKEHARD: Naturwiss. 44, 425 (1957). — Amer. Rev. Tubercul. 77, 364 (1958). — [5]) IONESCU-MIHĂIEŞTI, C., E. SORU, A. DIMBOVICEANU et collab.: Bul. Stiint. Acad. R. P. R. Seria Stiinţe Medicale 4, Nr. 1, 1361 (1950). — [6]) STOTZ, E.: J. Biol. Chem. 131, 555 (1939).

Weitere Studien zur Photomorphogenese der Keimlinge von Sinapis alba (L.)

Früher ist gezeigt worden[1]), daß an der Photomorphogenese der jungen Keimlinge von *Sinapis alba* neben dem reversiblen Hellrot-Dunkelrot-Pigmentsystem (Niederenergiereaktion = NER) noch ein weiteres Reaktionssystem (Blau-Dunkelrot-Pigmentsystem, Hochenergiereaktion = HER) beteiligt ist. Berichtet wurde bisher über Anthocyanbildung, Etiolementverhinderung des Hypokotyls und Haarbildung aus Epidermiszellen des Hypokotyls. Nunmehr fanden wir, daß auch der Einfluß des Lichts auf das Flächenwachstum der Kotyledonen auf die Energieabsorption in jenen zwei Reaktionssystemen zurückgeht. — Bestrahlung der Keimlinge: Jeweils zu Beginn des 2., 3. und 4. Tages nach Aussaat (25° C). Messung von maximaler Länge (= L) und Breite (= B) des größeren Keimblatts im relativen Maß zu Beginn des 5. Tages. Hellrot(= HR)- und Dunkelrot(= DR)feld sowie Interferenzfiltermonochromator-System sind wie bei [1b]). Die mittlere Blattgröße (20 Keimlinge pro Versuch) sei durch das Produkt $L_m \cdot B_m$ repräsentiert. Angegeben sind stets Mittelwerte aus mehreren gleichsinnigen Experimenten. Die wenigen Angaben dieser kurzen Mitteilung sollen im Vergleich mit [1a]) und [1b]) zeigen, daß beim Lichteinfluß auf das Kotyledonenwachstum sehr ähnliche Verhältnisse vorliegen wie bei den anderen erwähnten photomorphogenetischen Veränderungen (Fig. 1). Der Anteil der NER am Gesamteffekt bei täglich 6stündiger Bestrahlung im HR- bzw. DR-Feld ergibt sich aus Tabelle 1 und 2. — Unser Ziel ist zunächst ein möglichst korrektes Wirkungsspektrum der HER (hierzu Fig. 2). Die Frage ist,

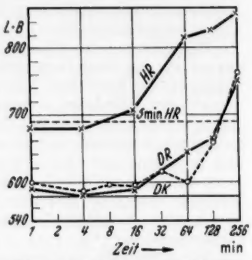


Fig. 1. Index der mittleren Blattgröße $L \cdot B$ in Abhängigkeit von der Bestrahlungszeit im Standard-Hellrot- bzw. Dunkelrotfeld (ausgezogene Kurve). — Gestrichelte Kurve: Die „Reversibilisierung" der Hellrotwirkung (HR) durch nachfolgende Dunkelrotbestrahlung (DR). Diese setzt *sofort* nach Beendigung der 5minutigen Hellrotvorbelichtung ein. DK = Dunkelkontrolle

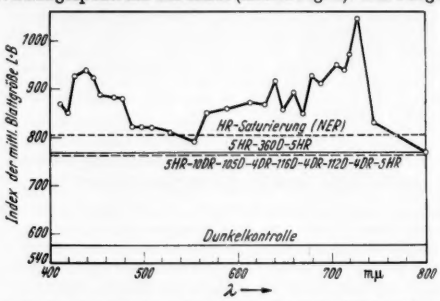


Fig. 2. Index der mittleren Blattgröße $L \cdot B$ in Abhängigkeit von der Wellenlänge. Bestrahlung: täglich 6 Std monochromatische Strahlung gleicher Intensität in Quanten/cm² · sec. (Intensität in Energie/cm² · sec bei $\lambda = 412$ mμ: 973 erg/cm² · sec). Unmittelbar vor und nach dieser Bestrahlung wird im Hellrotfeld je 5 min vor- bzw. nachbelichtet. (HR = Hellrot, DR = Dunkelrot, NER = Niederenergiereaktion, D = Dunkel, die Zahlen in den Bestrahlungsprogrammen bedeuten Minuten)

wie stark in den verschiedenen Spektralbereichen bei der Versuchsanstellung von Fig. 2 der Einfluß der NER ist. Dieser „Korrekturwert", der von dem Meßwert abgezogen werden sollte, müßte für jedes λ gesondert festgestellt werden. Näherungsweise können wir annehmen, daß im „Hellrotbereich" (525 bis 700 mμ) der Maximalwert der NER (Tabelle 1) diesen Korrekturwert repräsentiert. Im DR-Bereich ($\lambda > 700$ mμ) dürfte dieser Wert etwa durch das Resultat des untersten Bestrahlungsprogramms in Tabelle 2 gegeben sein. Der Korrekturwert für den Bereich 400 bis 525 mμ dürfte zwischen dem NER-Maximalwert (Tabelle 1) und dem Wert für Vor- und Nachbelichtung allein liegen (Tabelle 1). Durch die Subtraktion der Korrekturwerte von den Meßwerten der Fig. 2 läßt sich ein Wirkungsspektrum der HER aufstellen, das korrekter ist als das in [1a]) angegebene Spektrum. — Das lichtabhängige Wachstum von Blättern kann also nicht nur über

Tabelle 1. *Aufteilung von 16 min HR über einen Zeitraum von 6 Std*

(Aus Fig. 1 geht hervor, daß das dem hier verwendeten HR entsprechende Gleichgewicht des HR-DR-Pigmentsystems bereits nach 1 min HR praktisch eingestellt ist). $L \cdot B = 805{,}0$ wird als der Wert betrachtet, der mit Hilfe der NER innerhalb von 6 Std in unserem HR-Feld maximal erreicht werden kann. (HR = Hellrot, D = Dunkel, die Zahlen im Bestrahlungsschema bedeuten Minuten).

Bestrahlungsschema	$L \cdot B$
16HR-344D	726,7
4HR-116D-4HR-116D-4HR-116D-4HR	810,6
4HR-56D-2HR-58D-2HR-58D-2HR-58D-2HR-58D-2HR-58D-2HR	800,5
360HR	867,9
5HR-360D-5HR	768,1

das reversible HR-DR-Pigmentsystem beeinflußt werden[2],[3]), sondern auch über ein Pigmentsystem (von uns „Blau-Dunkelrot-Pigmentsystem" genannt), das nur nachweisbar ist, wenn über längere Zeit hinweg Strahlung relativ hoher Intensität geboten wird. Unter natürlichen Verhältnissen ist dieses System wahrscheinlich sehr wichtig.

Tabelle 2. *Aufteilung von 16 min DR über einen Zeitraum von 6 Std*

(Aus Fig. 1 geht hervor, daß das dem hier verwendeten DR entsprechende Gleichgewicht des HR-DR-Pigmentsystems bereits nach 1 min DR praktisch eingestellt ist). $L \cdot B = 656{,}0$ wird als der Wert betrachtet, der mit Hilfe der NER innerhalb von 6 Std in unserem DR-Feld maximal erreicht werden kann. (DR = Dunkelrot, HR = Hellrot, D = Dunkel, die Zahlen im Bestrahlungsschema bedeuten Minuten).

Bestrahlungsschema	$L \cdot B$
16DR-344D	605,5
4DR-116D-4DR-116D-4DR-116D-4DR	659,0
4DR-56D-2DR-58D-2DR-58D-2DR-58D-2DR-58D-2DR-58D-2DR	652,5
360DR	842,9
5HR-10DR-105D-4DR-116D-4DR-112D-4DR-5HR	764,6

Mit Hilfe der Deutschen Forschungsgemeinschaft. Auch Herrn Professor BÜNNING danken wir für die großzügige Unterstützung dieser Arbeiten.

Botanisches Institut der Universität, Tübingen

H. MOHR und A. LÜNENSCHLOSS

Eingegangen am 30. August 1958

[1]) MOHR, H.: a) Planta **49**, 389 (1957); b) Naturwiss. **45**, 448 (1958). — [2]) LIVERMAN, J. L., M. P. JOHNSON u. L. STARR: Science **121**, 440 (1955). — [3]) DOWNS, R. J.: Plant Physiol. **30**, 468 (1955).

Das Mischen von Trieben (Instinktbewegungen) durch mehrfache Stammhirnreizung beim Huhn

Wie bei Säugern [[1]), vgl. auch [2])] so läßt sich auch bei Vögeln[3]) durch „punktförmige" elektrische Erregung des Stammhirns (50 Hz Wechselstrom, Spannung von 0,01 bis etwa 1 V) *) am freibeweglichen Tier natürliches Triebverhalten auslösen. Es bezieht sich bei Hühnern unter anderem auf Körperbedürfnisse (Trinken, Fressen, Sich-Setzen, Einschlafen, Sich-Putzen), auf die Raumorientierung (Kopfwenden, Sich-Drehen, Streben abwärts usw.), auf artfremde Lebewesen (Flucht vor Bodenfeind, vor Luftfeind, Ausweichen, Angriff usw.), auf Artgenossen (Kampf, „Imponieren", Hacken, Balzbewegungen, Kükenverteidigung usw.) mit den jeweils zugehörigen Stimmlauten. Die objektbezogenen Bewegungen werden dabei auch am Ersatzobjekt oder im Leerlauf vollzogen. In mehrjährigen Untersuchungen stellten wir uns die bisher ungeprüfte Frage, was bei *gleichzeitiger* Aktivierung zweier verschiedener Verhaltensweisen (V.) durch Erregung zweier Hirnpunkte mittels zweier unabhängiger Reizgeräte geschieht. Folgende Typen der Interaktion beider V. wurden beobachtet:

1. Summierung. Sie kommt bei spiegelbildlichen V. vor, wie Kopfwendung rechts (I) und Kopfwendung links (II) oder Kreisgang rechts (I) und Kreisgang links (II), auch Kopfheben (I) und Kopfsenken (II). Beide V. subtrahieren sich (I − II), und zwar bei passendem Reizstärkeverhältnis bis zu Null, ohne sichtbaren Rest.

2. Überlagerung. Viele qualitativ verschiedene V. überlagern einander — bei mäßiger Aktivierung ohne wechselseitige Behinderung oder Erhöhung der Reizschwelle. Beispiele: Kopfwenden rechts (I) und Futterpicken (II) oder Umherschauen mit starkem Kopfrucken oder Federputzen; I + II gibt Futterpicken rechts, Aufmerken nach rechts, Putzen der rechten Körperseite. Ferner kann man z. B. Kopfschütteln dem Aufmerken überlagern, oder gespanntes Gackern dem Niedersetzen. Hacken (des rangtieferen Weibchens) und Kopfheben gibt Hacken, aber mehr nach oben. Beide Komponenten bleiben im Gesamtverhalten voll sichtbar; nur bei starkem Überwiegen einer V. gibt es Übergänge zu Typ 4.

3. Mischung. Hier ist weder eine V. durch die andere annullierbar (wie bei 1.) noch bleiben beide voll erhalten (wie bei 2.), sondern I + II ergibt Zwischenformen, dem Reizstärkenverhältnis entsprechend. Beispiele: Sichern (= Hals lang, Kopf unbewegt) und Umherschauen gibt Umherschauen mit kleineren, selteneren Kopfrucken und längerem Hals. Oder: Picken am Boden und Umherschauen gibt größere Kopfrucke mit angedeutetem Umherschauen und selteneres schnelleres Zupicken.

4. Verhinderung einer Reaktion durch die andere. 4a) Die Verhinderung ist gegenseitig. Beispiel: Flucht und agressives Hacken; bei mäßiger und ausbalancierter Aktivierung beider V. bleibt das Huhn am Ort gleichsam „festgeklemmt"; (stärkere Erregung kann zu Typ 6 führen). 4b) Die Verhinderung ist einseitig. Beispiel: wenig überschwellig aktiviertes Erstarren (= feindbezogenes Unbewegtwerden) bringt andere V. (z. B. Putzen, Picken, Umherschauen, verschiedene Stimmlaute) zum Schweigen.

5. Unterdrückung seien die Fälle einer Verhinderung genannt, wo nach Aufhören beider Reize die verhinderte V. sich explosiv nachentlädt, also wohl aktiviert, aber zugleich blockiert war. Beispiele: stärker aktiviertes Niedersetzen verhindert erregtes Umherschauen, das Huhn sitzt unbewegt mit eingezogenem Kopf. Nach gleichzeitigem Aufhören beider Reize: lebhaftes Hochschnellen des Kopfes, kurzes erregtes Gackern. Oder: (ängstliches) Federanlegen verhindert Federaufplustern; nach Ende beider Reize: dickes Aufplustern über etliche Sekunden. Für Typ 4 und 5 ist charakteristisch, daß Aktivierung einer V. die Eintrittsschwelle für die andere erhöht.

6. Übergang in eine andere Verhaltensqualität kann bei starker Aktivierung beider V. in manchen Fällen auftreten. Beispiel: Fluchttendenz mit engem Gefieder (I) und agressive Hacktendenz mit lockerem Gefieder und leicht gesträubten Halsfedern (II). Bei I + II sträubt das Huhn stark die Federn, besonders an Hals und Nacken, die Flügel hängen leicht, es trippelt am Ort und schreit gellend. Das Bild ähnelt dem V. bei Nest- und Kükenverteidigung, wo man — hier aus der Situation — auf einen Konflikt zwischen Angst und Wut schließen darf.

Abschließend sei erwähnt, daß „Übersprung"-Verhalten im Sinne der Ethologen in unseren Versuchen bisher nicht auftrat.

Max-Planck-Institut für Verhaltensphysiologie, Seewiesen üb. Starnberg (Obb.)

E. v. HOLST und V. v. ST. PAUL

Eingegangen am 16. Oktober 1958

*) Elektroden: Silberdraht 0,1 mm; die Firma Lacroix und Kress (Bramsche bei Osnabrück) übernahm freundlicherweise die Lackisolierung des Drahts.

[1]) HESS, W. R.: Das Zwischenhirn. 1954. — [2]) HOLST, E. v.: Fortschr. Zool. **11**, 245 (1958. — [3]) HOLST, E. v.: Naturwiss. **44**, 549 (1957).

Besprechungen

Handbuch der Physik. — Encyclopedia of Physics. — Hrsg. von S. FLÜGGE. Bd. 50: Astrophysik I: Sternoberflächen-Doppelsterne. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1958. VII, 458 S. u. 167 Fig. Gr.-8°. Gzl. DM 98.—.

Der vorliegende 50. Band des Handbuchs für Physik befaßt sich mit den Doppelsternen und den Sternoberflächen, worunter hier nur die Atmosphären der Fixsterne, nicht aber die Oberflächen fester Himmelskörper (Planeten) verstanden sind. Schon die Namen der Mitarbeiter bürgen zumindest für die sachliche Qualität der Beiträge; es sind durchweg bekannte und anerkannte Fachleute, die sich gründlich mit dem jeweiligen Gebiet beschäftigt haben. Wenn die Astrophysik im Rahmen eines Handbuchs der Physik behandelt wird, so kann das Ziel nur sein, die physikalischen Grundlagen darzulegen und einen Überblick über die Problematik und die Ergebnisse zu bringen, ohne jedoch auf Einzelheiten, die nur den praktisch arbeitenden Astronomen interessieren, einzugehen (dazu dient das in Vorbereitung begriffene Handbuch der Astrophysik von KUIPER). Dieses Programm ist in vorliegendem Werk im allgemeinen gut durchgeführt, wenn man auch hier und da einiges für überflüssig halten und anderes wiederum vermissen mag. Insbesondere hätte man sich als ersten astrophysikalischen Beitrag vielleicht eine Behandlung der astrophysikalischen Grundlagen und der Zustandsgrößen der Sterne gewünscht.

Den Schwerpunkt des vorliegenden Bandes bildet der hervorragende Beitrag von D. BARBIER über die allgemeine Theorie der Sternatmosphären (franz.). Hier werden die physikalischen Grundgleichungen abgeleitet und dann die Fragen des Energietransportes, die Berechnung von Modellatmosphären, die Theorie der Fraunhoferlinien, die Bestimmung der physikalischen Zustände und der chemischen Zusammensetzung aus den beobachteten Sternspektren, die äußeren Atmosphären (Sonnenchromosphäre, Hüllensterne) und anderes behandelt. Alles in allem eine gute und klare Zusammenfassung der Physik der Sternatmosphären, die zu einem gewissen Grade Voraussetzung für alle weiteren Beiträge über Sternoberflächen ist. Auch die Länge des Beitrags — er nimmt fast $^1/_3$ des ganzen Bandes ein — ist durchaus gerechtfertigt und charakterisiert seine Bedeutung.

Ein zweiter Hauptartikel von CH. FEHRENBACH behandelt die Spektralklassifikation der Sterne (franz.). Die verschiedenen Klassifikationen auf Grund des Linienspektrums (Harvard-System, MK-System, Klassifikation von Upsala und Stockholm usw.), auf Grund des Kontinuums (nach BARBIER und CHALONGE usw.) und auf Grund photometrischer Beobachtungen (W. BECKER, JOHNSON, MORGAN usw.) werden sehr ausführlich samt den jeweils benutzten Kriterien beschrieben. Verschiedene Spektralsysteme werden eingehend miteinander verglichen. Dies alles gibt dem praktischen Astronomen eine ausgezeichnete, vielleicht sogar die bisher beste Zusammenstellung dieses ganzen Komplexes, geht aber vielleicht über den Rahmen eines Handbuchs der Physik etwas hinaus, da es sich häufig nicht mehr um physikalische Dinge, sondern um rein praktische Fragen der Klassifikations- und Beobachtungstechnik handelt. An mehreren Stellen wird auf das nun physikalisch wieder bedeutsame Ziel jeder Klassifikation eingegangen, nämlich auf den Zusammenhang zwischen den zur Klassifikation benutzten, rein phänomenologischen Kriterien und den physikalischen Größen, die den Aufbau der Sternatmosphäre bestimmen. Diesem noch keineswegs befriedigend gelösten Problem hätte man einen noch breiteren Raum gewünscht.

Alle anderen Beiträge über die Sternoberflächen behandeln spezielle Probleme und spezielle Sterntypen und nehmen darum schon rein äußerlich einen sehr viel geringeren Raum ein. P. C. KEENAN behandelt in einem Beitrag „Sterne mit besonderen Spektren" (engl.) die Metallic-line-stars, die High-velocity-stars und die verschiedenen Sterngruppen, in denen der Kohlenstoff ein anomales Verhalten zeigt. Die Molekülbanden in Sternspektren und die damit zusammenhängenden physikalischen Fragen werden von P. SWINGS (franz.) bearbeitet. K. WURM hat in 2 Beiträgen (deutsch) die planetarischen Nebel behandelt. Der erste Beitrag bringt im wesentlichen eine Beschreibung der Spektren und die Grundzüge der Physik der Nebelhülle, der zweite enthält die mathematische Formulierung der Elementarprozesse und darauf aufbauend die eigentliche Theorie der planetarischen Nebel. Ein Beitrag (engl.) von J. L. GREENSTEIN schließlich befaßt sich mit den Beobachtungen und der theoretischen Interpretation der Spektren der weißen Zwerge. — Probleme der Magneto-Hydrodynamik, Fragen der Kernprozesse, Radiostrahlung und andere Dinge, die auch in den Sternatmosphären eine Rolle spielen, fehlen in diesem Band. Sie sollen offenbar später in anderem Zusammenhang behandelt werden.

Die Doppelsterne, das zweite Thema des vorliegenden Bandes, sind in 3 Beiträgen (engl.) „Visuelle Doppelsterne", „Bedeckungsveränderliche" und „Spektroskopische Doppelsterne" bearbeitet. (Ist es eigentlich vom Standpunkt der Astrophysik aus berechtigt, immer noch an dieser Aufteilung nach rein phänomenologischen und durch die Beobachtung bedingten Gesichtspunkten festzuhalten?). Die visuellen Doppelsterne behandelt P. VAN DE KAMP, ein Meister der Positionsastrometrie. Hier stehen himmelsmechanische Probleme (Bahnbestimmung, Störungen, die Frage planetarischer Begleiter usw.) im Vordergrund. S. GAPOSCHKIN gibt in konzentrierter Form einen Überblick über die verschiedenartigen Daten der Bedeckungsveränderlichen. Insbesondere wird die Frage ihrer instabilen Atmosphären behandelt und durch interessante Abbildungen erläutert, die in einem physikalischen Buch zunächst ungewohnt anmuten und an medizinische Arbeiten erinnern. O. STRUVE und S. S. HUANG, in deren Institut seit Jahren spektroskopische Doppelsterne analysiert werden, geben eine gute Zusammenfassung der himmelsmechanischen wie besonders der physikalischen Probleme dieser meist in sehr engen Bahnen laufenden Objekte. Eine gewisse Überschneidung mit dem Artikel über die Bedeckungsveränderlichen läßt sich nicht vermeiden, da es sich ja im Grunde um physikalisch gleichartige Objekte handelt.

So schön die Beiträge im einzelnen sind, um so unverständlicher ist der Aufbau des Buches als Ganzes. Der grundlegende Artikel von BARBIER, der als zweitletzter erscheint, hätte zweifellos an erste, zumindest aber an zweite Stelle hinter die Spektralklassifikation gehört. Warum die 3 Kapitel über die Doppelsterne mitten zwischen den Arbeiten über die Sternoberflächen stehen, bleibt unergründlich, und vollends unverständlich ist es, warum die beiden ganz eng zusammengehörenden, noch dazu vom gleichen Autor verfaßten Beiträge über die planetarischen Nebel an ganz verschiedenen Stellen erscheinen. Sicherlich hat dies alles rein äußere Gründe, und der wissenschaftliche Wert der einzelnen Arbeiten wird dadurch nicht berührt, aber schade ist es doch.

Am Schluß des Bandes befindet sich ein Deutsch-Englisches und ein Englisch-Deutsches Sachverzeichnis sowie ein gesondertes Sachverzeichnis für die 3 Beiträge in französischer Sprache.

H. H. VOIGT (Göttingen)

General Cytochemical Methods. Hrsg. v. J. F. DANIELLI. Bd. I. New York: Academic Press 1958. XI, 471 S. u. 150 Abb. $ 12.80.

Dieser erste Band ist von elf Spezialisten geschrieben. Auch in Deutschland wächst jetzt das Interesse an der Cytochemie, besonders bei den Medizinern. Deswegen ist dieser Band sehr zu begrüßen und wird hoffentlich auch bei deutschen Cytologen viel gebraucht werden. Er umfaßt in mustergültiger Weise folgende cytochemische und cytophysikalische Methoden: Quantitative Bestimmungen von Zellstrukturen mit ultraweichen Röntgenstrahlen. Bestimmung der Masse und Konzentration im Interferometermikroskop. UV-Mikrospektrophotometrie. Quantitative Bestimmungen der Desoxyribonucleinsäure durch Feulgen-Mikrospektrophotometrie. Autoradiographie als cytochemische Technik mit besonderer Berücksichtigung von C^{14} und S^{35}. Cytochemie und Messung von Sulfhydrilgruppen durch Azoaryl-Mercaptid-Koppelung. Färbungstechniken für Esterasen. Fluoreszenz-Antikörper-Technik. Calcium-Phosphat-Präzipitation als Technik zum Nachweis von alkalischer Phosphatase.

G. C. HIRSCH (Göttingen)

Herausgeber und verantwortlicher Redakteur: Professor Dr. Ernst Lamla, Göttingen. — Verantwortlich für den Anzeigenteil: Günter Holtz, Berlin-Wilmersdorf, Heidelberger Platz 3. — Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg. — Druck der Universitätsdruckerei H. Stürtz AG., Würzburg. — Printed in Germany

Präzisions-
MIKROSKOPE
für alle Aufgaben.
WERTVOLLSTE WETZLARER OPTIK!
OPT.-INST. G.K.E. SCHRÖDER
HAMBURG 36 DAMMTORSTR. 22
Verlangen Sie bitte unseren Muster-Katalog

Soeben erschien:

Kurzes Lehrbuch der anorganischen und allgemeinen Chemie

Von Dr. **Gerhart Jander,** o. Professor an der Technischen Universität Berlin, und Dr. **Hans Spandau,** apl. Professor an der Technischen Hochschule Braunschweig. Fünfte Auflage. Berichtigter Neudruck. Mit 169 Abbildungen. XII, 563 Seiten Gr.-8° 1958

Ganzleinen DM 24.—

Springer-Verlag / Berlin · Göttingen · Heidelberg

Lichtelektrische Meßgeräte

Photozellen · Selenphotoelemente · CdS-Kristallzellen
Germaniumzellen · Silizium-Photoelemente
Beleuchtungsmesser 0,001—100000 Lux
Kolorimeter
Universal-Kolorimeter
Medico-Kolorimeter
Titrier-Kolorimeter
Röhren-Kolorimeter
Becherglas-Kolorimeter
Durchfluß-Kolorimeter
Spektral-Kolorimeter
Spektralphotometer 200—20000 nm
Flammenphotometer mit Membrankompressor
Multiflex-Galvanometer ab 10^{-8}—10^{-11} A
Farbanalysator
Glanzmesser · Reflexionsmesser
Transparenz- und Schwärzungsmesser
Leukometer
pH-Acidometer · Taschen-pH-Meter

Spezialfabrik lichtelektr. Zellen und Apparate
Dr. B. LANGE
Berlin-Zehlendorf, Hermannstraße 14-18

Bildungsauftrag und Bildungspläne der Gymnasien

Vorgelegt von der

Arbeitsgemeinschaft Deutsche Höhere Schule

VIII, 142 Seiten Gr.-8° 1958. DM 4.80

Für Mitglieder der in der Arbeitsgemeinschaft Deutsche Höhere Schule vertretenen Verbände und Gesellschaften

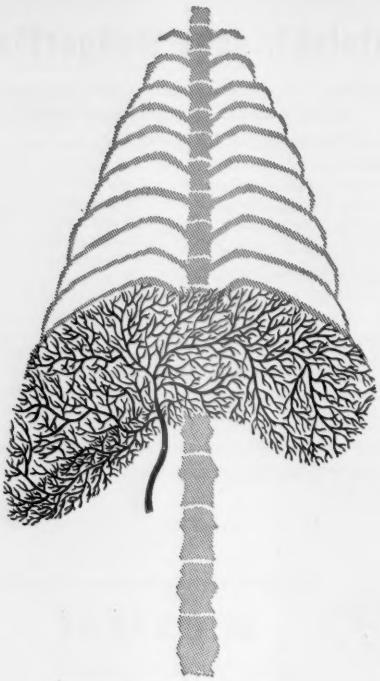
Vorzugspreis DM 3.85

Diese Denkschrift ist in ihrer Dreiteilung „Bildungsauftrag, Bildungsziele und Lehrstoff" das Bekenntnis zu einer deutschen höheren Schule, wie sie uns in einer Zeit politisch-wirtschaftlichen Umbruchs größten Ausmaßes not tut. Sie richtet die Blicke auf das zentrale Bildungsproblem unserer Tage, das Verhältnis von Geisteswissenschaft und Naturwissenschaft, und will mehr sein als eine Anleitung für den Lehrer zur Gestaltung seines Unterrichts.

Sie ist geboren aus der Sorge, daß die höhere Schule die ihr seit 150 Jahren zukommende Mission im deutschen Geistesleben nicht mehr als staatliche Bildungsstätte erfüllen kann, wenn ihre einheitliche Ausrichtung auf hohe Bildungsziele von einander widerstreitenden Kräften bedroht ist, die weltanschaulichen, politischen, wirtschaftlichen, sozialen, wissenschaftlichen, pädagogischen, fachlichen Einflüssen entspringen und nicht zu einem harmonischen Ausgleich geführt werden.

Sie ist das Ergebnis einer auf eingehender Beratung beruhenden Gemeinschaftsarbeit von Professoren und Lehrern der Hochschule und der höheren Schule, die als Vorsitzende oder Beauftragte wissenschaftlicher Gesellschaften und Fachverbände in ihrer Gesamtheit die Bildungsmöglichkeiten aller Fächer der höheren Schule kennen und sich, beraten durch Vertreter anderer, an der Heranbildung der Jugend interessierter Kreise, über den inneren Aufbau der höheren Schulen und das Zusammenwirken der Fächer verständigt haben.

SPRINGER-VERLAG / BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG



We are proud to announce . . .

The latest addition to . . .

The AIBS Symposium Proceedings Series

LIVER FUNCTION

Edited by R. W. Brauer

Eighty-eight authors contributed papers to this definitive volume on liver function. Amply illustrated, all papers are followed by the lively discussion that resulted during the Symposium.

The Symposium was held in San Francisco October 30-November 2, 1956, jointly sponsored by the Atomic Energy Commission, the Office of Naval Research, the Bureau of Ships, and the Bureau of Medicine and Surgery, U.S. Navy Department, in collaboration with the American Institute of Biological Sciences.

702 pages. $ 8.95 ($ 7.95 AIBS Members)

Orders and all inquiries should be addressed to:

AMERICAN INSTITUTE OF BIOLOGICAL SCIENCES

2000 P Street, N.W. Washington 6, D.C.

Ergebnisse der exakten Naturwissenschaften

Herausgegeben von S. Flügge und F. Trendelenburg

unter Mitwirkung von W. Bothe† und F. Hund

Dreißigster Band

Mit 144 Abbildungen

III, 351 Seiten Gr.-8° 1958

DM 69.—; Ganzleinen DM 72.50

Inhaltsübersicht: **Grundlagen der Röntgenoptik und Röntgenmikroskopie.** Von G. Hildenbrand, Erlangen. — **Lineare Reaktorkinetik und -Störungstheorie.** Von H. Grümm und K. H. Höcker, Stuttgart. — **Neuere Entwicklungen in der klassischen statistischen Mechanik und in der kinetischen Gastheorie.** Von C. Truesdell, Bloomington (Indiana), USA, und D. Morgenstern, Berlin-Zehlendorf. — Namenverzeichnis. Sachverzeichnis.

SPRINGER-VERLAG / BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG